



HAL
open science

Etude de l'influence de la composition biochimique des micro-algues sur le rendement et la qualité de la bio-huile produite par liquéfaction hydrothermale

Lucie Matricon

► **To cite this version:**

Lucie Matricon. Etude de l'influence de la composition biochimique des micro-algues sur le rendement et la qualité de la bio-huile produite par liquéfaction hydrothermale. Chimie organique. Université Claude Bernard - Lyon I, 2022. Français. NNT : 2022LYO10109 . tel-04250439

HAL Id: tel-04250439

<https://theses.hal.science/tel-04250439v1>

Submitted on 19 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THESE de DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

École Doctorale de Chimie de Lyon (N°206)

Discipline : Chimie

Soutenue publiquement le 08/11/2022, par :

Lucie Matricon

**Étude de l'influence de la composition
biochimique des micro-algues sur le
rendement et la qualité de la bio-huile
produite par liquéfaction hydrothermale**

Devant le jury composé de :

FONGARLAND, Pascal	Professeur des Universités	UCB Lyon 1	Président du jury
COCERO ALONSO, Maria José	Professeure	Université de Valladolid	Rapporteuse
FERRASSE, Jean-Henry	Maître de conférences	Université Aix-Marseille	Rapporteur
CHARON, Nadège	Ingénieure de recherche	IFPEN	Examinatrice
GOBET, Angélique	Chercheuse	IFREMER	Examinatrice
LACHENAL, Dominique	Professeur Émerite	Université Grenoble Alpes	Examineur
GEANTET, Christophe	Directeur de recherche CNRS	IRCELYON	Directeur
ROUBAUD, Anne	Ingénieure de recherche	CEA	Encadrante
HAARLEMMER, Geert	Directeur de recherche	CEA	Invité



Étude de l'influence de la composition biochimique des micro-algues sur le rendement et la qualité de la bio-huile produite par liquéfaction hydrothermale

Study of the influence of the biochemical
composition of microalgae on hydrothermal
liquefaction bio-oil yield and quality

Dirigée par : Christophe Geantet (IRCELYON)

Et encadré par : Anne Roubaud et Geert Haarlemmer (CEA Liten)

Ce travail de recherche a été financé par l'Agence Nationale de la Recherche au sein du projet RAFBIOALG.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent tout d'abord au jury qui a évalué mon travail. Le professeur Pascal Fongarland qui a présidé le jury, professeure Maria José Cocero Alonso et professeur Jean-Henry Ferrasse nommés en tant que rapporteurs et les trois examinateurs : Docteure Nadège Charon, Docteure Angélique Gobet et Professeur Dominique Lachenal. Je m'adresse ensuite au reste du jury, qui constitue l'équipe encadrante. Et plus particulièrement Anne, je te remercie pour ta bienveillance durant ces trois années mais également pour les discussions scientifiques et ton aide tout au long de la thèse. Tu as su m'orienter dans les moments de doutes et me soutenir dans mes idées. Geert, je te remercie pour les échanges scientifiques que l'on a pu avoir, pour ta patience face aux nombreux casse-têtes que j'ai pu t'apporter mais également pour ton aide précieuse sur les logiciels de programmation. Et enfin, merci à mon directeur de thèse, Christophe, pour les nombreux échanges scientifiques que l'on a eu durant ces trois années, très enrichissants et constructifs mais aussi pour ton soutien et ta présence malgré la distance.

Je tiens ensuite à remercier toute l'équipe du laboratoire (nommé LRP jusqu'à présent). Je citerai tout d'abord les techniciens, Julien, Bruno et Maria pour leur aide précieuse lors des manip. Bruno, merci pour ton soutien, ta bonne humeur et ta motivation lors des essais, tu as toujours tout fait pour que tout se déroule bien. Maria, merci pour ta rigueur lors des analyses et pour la qualité de ton travail. Merci également Seb pour ton aide précieuse sur les appareils analytiques, les nombreuses discussions et prise de tête pour arriver à caractériser au mieux les huiles (et phase aqueuse, et oui...) ! ; Boris, pour ton soutien, les échanges musicaux et discussions sur tout et rien ; Thierry pour ton sourire et ta bienveillance ; Serge, pour les échanges et sorties escalade (Tu m'as fait grimper en tête et ça, c'était pas gagné !) ; Michael, mon co-bureau de ma dernière année, merci pour les rires, le soutien, et pour les quelques sorties au bloc tout de même ! Un grand merci également Lisa pour ta motivation et pour m'avoir accompagné cette dernière année dans mes analyses et dans des idées plus ou moins faciles à mettre en œuvre... Je tiens également à remercier les chefs de laboratoire, Isabelle, Laurent et Marine pour leur accompagnement tout au long de la thèse. Je remercie évidemment tout le reste du laboratoire, Sylvie, Muriel; Hary, Maguelone, André, Françoise, avec qui j'ai eu l'occasion de partager de très bons moments.

Je passe maintenant aux docteurs et futurs docteurs qui m'ont accompagnés durant ces trois ans. Je tiens tout d'abord à te remercier Victor, on s'est suivi depuis ton stage, tu as toujours été là, dans les bons et les moments plus compliqués, merci pour tout. Merci

également à Elie avec qui je partage ma passion, la musique. Un grand merci aussi à Elvira, co-bureau, confidente et amie ; Emile pour les nombreuses discussions et pour le soutien ; Florent, pour les sorties au bloc et la bienveillance, sans oublier Morgane, Hala, Oscar et Thomas. Mais aussi les stagiaires qui ont rythmés ces années, je citerais plus particulièrement Robin et Bastien.

Je tiens également à remercier toute l'équipe du projet Rafbioalg pour tous les bons souvenirs, au château de Cadarache, à Narbonne, à Lyon et pour les nombreux échanges scientifiques que l'on a pu avoir. C'était une très belle expérience !

Mes remerciements se tournent ensuite à ma famille pour leur soutien et leur présence quoi qu'il arrive et à mes amies de toujours, Anaïs, Morgane, Théa et Coline pour leur soutien sans faille. Je finirai par toi, Mathias, merci pour ton sourire, ton amour et ton énergie au quotidien.

SOMMAIRE

Remerciements	6
TABLE DES ILLUSTRATIONS	12
LISTE DES TABLEAUX	18
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	20
Introduction.....	21
Chapitre I : Etat de l'art	27
1. Des carburants d'origine fossile aux biocarburants de 3 ^{ème} génération.....	30
2. La ressource : les micro-algues	34
2.1. Les protéines	35
2.2. Les lipides	37
2.3. Les carbohydrates	39
2.4. Autres composés	40
2.5. Les composés inorganiques.....	41
3. Le procédé de liquéfaction hydrothermale	42
3.1. La réaction de liquéfaction hydrothermale	43
3.2. Effets des différents paramètres	45
3.3. Développement du procédé continu	48
4. Lien entre la biomasse et les produits issus de la liquéfaction hydrothermale	51
4.1. Réactivité des protéines	52
4.2. Réactivité des lipides	53
4.3. Réactivité des carbohydrates	53
4.4. Réactivité des pigments et acides nucléiques	56
4.5. Réactivité des mélanges	56
4.6. Influence des composés inorganiques sur la réactivité	61
4.7. Répartition des produits dans les différentes phases	61
5. Etat de l'art sur la modélisation de la conversion par liquéfaction hydrothermale	63
5.1. Modélisation du rendement et de la composition de la bio-huile.....	63
5.2. Modélisation cinétique	66
6. Conclusion.....	70
Références	72
Chapitre II : Matériels & méthodes.....	85
1. Les micro-algues	86
1.1. Conditions de culture	86

1.2. Composition élémentaire et macromoléculaire des lots	88
2. Les dispositifs et méthodes expérimentales	93
2.1. Installation de liquéfaction hydrothermale en batch : Parr.....	93
2.2. Installation de liquéfaction hydrothermale en continu : Hydroliq	96
3. Exploitation des essais.....	97
3.1. Calcul des rendements des produits.....	97
3.2. Bilan massique et carbone	102
4. Méthodes analytiques	103
4.1. Analyse de la biomasse algale.....	103
4.2. Analyse du biocrude : mesure de l'humidité par Karl Fisher	106
4.3. Analyse du gaz	107
4.4. Analyse du char : analyse élémentaire par CHNS	107
4.5. Analyse de la bio-huile	107
4.6. Analyse de la phase aqueuse	113
4.7. Résumé de l'analyse des produits	119
5. Traitement des résultats.....	120
5.1. Méthodologie du plan d'expérience	120
5.2. Modélisation par apprentissage ou <i>machine learning</i>	121
5.3. Modélisation cinétique	124
6. Présentation des essais	126
7. Conclusion.....	130
Références	131

Chapitre III : Effets de la composition de la biomasse et des conditions opératoires sur la formation de bio-huile..... 135

1. Effet de la composition de la biomasse sur le rendement massique en bio huile et sur le taux d'azote dans les différents produits.....	136
1.1. Etude du rendement massique en bio-huile	137
1.2. Etude du taux d'azote dans les différents produits.....	140
1.3. Conclusion	143
2. Effets des paramètres de liquéfaction hydrothermale sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote dans la bio-huile.....	144
2.1. Etude du lot riche en protéines.....	144
2.2. Etude du lot riche en lipides	148
2.3. Conclusion	151
3. Effet des paramètres de liquéfaction hydrothermale sur la réactivité : étude des analyses GPC-SEC et GC-MS.....	152
3.1. Effet de la température et du temps de séjour sur la réactivité : étude du lot 2020RAFCS1	152

3.2. Effet du taux de matière organique sur la réactivité : étude du lot 2020RAFCS1 .	155
3.3. Conclusion	157
4. Application aux essais continus	157
4.1. Comparaison batch et continu.....	158
4.2. Effet de la composition de la biomasse.....	160
4.3. Effet des paramètres de l'HTL.....	161
4.4. Conclusion	162
5. Schéma de synthèse.....	164
6. Modélisation par régression linéaire	165
6.1. Application des modèles issus de la littérature	165
6.2. Définition du modèle	167
6.3. Résultats	168
6.4. Conclusion	172
7. Modélisation par <i>machine Learning</i>	173
7.1. Définition du modèle	174
7.2. Résultats	176
7.3. Conclusion	179
8. Conclusion finale	180
Références	181
Chapitre IV : Réactivité de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i> en conditions d'HTL : analyse de la bio-huile et de la phase aqueuse	185
1. Proposition d'un schéma réactionnel de dégradation de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i> en conditions d'HTL	186
1.1. Etude de <i>C. sorokiniana</i>	186
1.2. Comparaison avec <i>C. vulgaris</i>	201
1.3. Conclusion	202
2. Confirmation du schéma réactionnel : analyse détaillée des produits issus de l'HTL	203
2.1. Etude de <i>C. sorokiniana</i>	203
2.2. Comparaison avec <i>C. vulgaris</i>	226
2.3. Conclusion : schéma réactionnel	228
3. Conclusion finale	232
Références	233
Chapitre V : Modélisation cinétique	237
1. Présentation des données expérimentales	239
2. Application des données au modèle de Hietala et Savage	242

3. Modélisation cinétique basée sur l'étude réactionnelle	244
1.1. Développement du schéma réactionnel dédié au modèle cinétique	244
1.2. Détermination des paramètres cinétiques	255
1.3. Résultats	256
1.4. Conclusion	266
4. Profil d'espèces azotées et oxygénées : vers un schéma cinétique plus détaillé	268
5. Conclusion.....	274
Références	275
Conclusion.....	277
Chapitre VI : Annexes	286

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure I-1 : Consommation énergétique par secteur en 2019 (étude basée sur 19 pays : Australie, Autriche, Canada, République Tchèque, Finlande, France, Allemagne, Hongrie, Italie, Japon, Corée, Luxembourg, Nouvelle-Zélande, Pologne, Portugal, Espagne, Suisse, Angleterre et Etats-Unis ; données de 2018 incluses pour le Canada et l'Italie ; ² Inclut l'agriculture, les exploitation minières et les constructions ; ³ Inclut les voitures, les véhicules utilitaires de sport et les camions à utilité personnelle) [1].....	28
Figure I-2 : Evolution des émissions de CO ₂ dues à la combustion de fuel entre 1973 et 2019 [1].....	29
Figure I-3 : Exemple de bioraffinerie dédiée à la production de biocarburant par liquéfaction hydrothermale de micro-algues	33
Figure I-4 : Structure d'un acide aminé.....	36
Figure I-5 : Profil d'acides aminés de <i>C. sorokiniana</i>	36
Figure I-6 : Structure d'un phospholipide.....	38
Figure I-7 : Formules développées des principales bêtaïnes retrouvées dans les micro-algues [60].....	39
Figure I-8 : Structure chimique d'un nucléotide (monomère d'acide nucléique) [68].....	40
Figure I-9 : Structure chimique de la chlorophylle [71].....	41
Figure I-10 : Structure de la phycocyanobiline et de la phycoérythrobiline [72]	41
Figure I-11 : Évolution des paramètres de l'eau (densité, constante diélectrique et produit ionique) en fonction de la température à 25 MPa [46]	44
Figure I-12 : Schéma de fonctionnement de la filtration haute pression et haute température [35].....	50
Figure I-13: Schéma de l'installation pilote d'HTL de PNNL [108]	50
Figure I-14 : Décarboxylation induite à haute température	52
Figure I-15 : Hydrolyse des triglycérides	53
Figure I-16 : Dégradation de la cellulose en glucose en conditions d'HTL.....	54
Figure I-17 : Décomposition du glucose en conditions d'HTL (avec RA : retro-aldol reaction ; BR : Benzilic acid rearrangement ; LBET : Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein transformation) [49,105]	55
Figure I-18 : Schéma de formation des composés issus des réactions de Maillard [49]	57
Figure I-19 : Réaction de formation d'amides à haute température [141].....	58
Figure I-20 : Réaction d'estérification	58
Figure I-21 : Exemple de réaction entre l'acide oléique et la phénylalanine [49]	59
Figure I-22 : Comparaison des modélisation par GB (a) et RF (b) pour la prédiction du rendement massique en bio-huile, du taux d'azote et d'oxygène dans les bio-huiles avec comme paramètres d'entrée la composition biochimique et les paramètres d'HTL	65
Figure I-23 : A : schéma cinétique de Valdez et al. (2014) [88] ; B : schéma cinétique de Hietala et al. (2016) [160] avec S = solide, G=gaz, A=phase aqueuse, V=volatiles ; C : schéma cinétique de Vo et al. (2017) [161]	67
Figure I-24 : Constantes cinétiques issues de la littérature [88,161,164] (BC: Biocrude, AP: Aqueous Phase) déterminées à 250, 300, 350 et 400 °C pour Valdez et al. et Sheehan et Savage et à 250, 300 et 350 °C pour The Ky Vo et al.	68
Figure I-25 : Modèle cinétique proposé par Hietala and Savage (2021) [82]	69
Figure II-1 : Photo microscope (x400) de <i>C. sorokiniana</i> (diamètre cellulaire entre 3 et 6 µm)	87
Figure II-2 : Photo microscope (x1000) de <i>C. vulgaris</i> (diamètre cellulaire entre 3 et 6 µm). 88	

Figure II-3 : Composition macromoléculaires des lots utilisés pour les essais en batch.....	89
Figure II-4 : Composition élémentaire des lots 2020RAFCS1 (a), 2020RAFCS3 (b), 2020RAFCS4 (c), 2021RAFCV2 (d)	90
Figure II-5 : Profil d'acides aminés des lots utilisés pour les essais en batch	91
Figure II-6 : Profil d'acides gras des lots utilisés pour les essais en batch	91
Figure II-7 : Composition macromoléculaire des lots utilisés pour les essais continus	92
Figure II-8 : Réacteur batch (Parr Instrument Company).....	93
Figure II-9 : Profil de température sur le Parr en fonction du mode de régulation.....	94
Figure II-10 : Schéma de récupération des produits issus de l'HTL de micro-algues	95
Figure II-11 : Réacteur pilote de liquéfaction hydrothermale en continu (Hydroliq)	96
Figure II-12 : Illustration de la chromatographie par exclusion stérique	108
Figure II-13 : Protocole de prétraitement de la phase aqueuse	116
Figure II-14 : Comparaison de l'analyse d'un échantillon de phase aqueuse avec l'ancienne colonne DB-1701 (en vert) et la nouvelle colonne Stabilwax (en rouge).....	116
Figure II-15 : Calcul du paramètre le plus discriminant (exemple de la température).....	123
Figure III-1 : Rappel de la composition des lots de micro-algues	137
Figure III-2 : Rendement massique en bio-huile issues d'essais d'HTL réalisées dans différentes conditions (température, temps de séjour, taux de MO) et pour différents lots de micro-algues (2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4, 2021RAFCV2).....	138
Figure III-3 : Diagramme de Van Krevelen des bio-huiles (rond) en comparaison avec la biomasse de départ (croix) ; a : H/C en fonction de N/C et b : H/C en fonction de O/C (ratios molaires).....	139
Figure III-4 : Taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) issus d'HTL de différents lots de micro-algues	141
Figure III-5 : Répartition de l'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) pour différents lots de micro-algues.....	142
Figure III-6 : Concentration en ammonium (NH ₄ ⁺) en fonction du pH de la phase aqueuse issus des essais sur 2021RAFCV2 à 200, 300 et 350 °C	142
Figure III-7 : Evolution du pH entre a : les solutions algales de départ (pH _{in}) et b : la phase aqueuse après HTL (pH _{out}).....	143
Figure III-8 : Effet moyen de A : la température, B: le temps de séjour, C: le taux de MO et les interactions correspondantes sur le rendement en bio-huile pour a : 2020RAFCS1 et b : 2020RAFCS3	145
Figure III-9 : Evolution des rendements en bio-huile issues d'HTL de 2020RAFCS1 en fonction des conditions opératoires (température et temps de séjour) pour a : 10 % de MO et b : 17% de MO.....	146
Figure III-10 : Effet de l'augmentation de la température et du temps de séjour sur le rendement des produits d'HTL à 17 % de MO (2020RAFCS1).....	147
Figure III-11 : Effet moyen de A : la température, B : le temps de séjour, C : le % de MO et les interactions correspondantes sur le taux d'azote dans la bio-huile (%).....	148
Figure III-12 : Evolution du rendement massique des produits (a : bio-huile, b : char, c : gaz, d : phase aqueuse) issus de l'HTL de 2021RAFCV2 en fonction du temps et de la température (début du palier à 300 °C au bout de 20 min ; début du palier à 350 °C au bout de 26 min)	149
Figure III-13 : Evolution du taux d'azote dans les produits (a : bio-huile, b : phase aqueuse, c : char) issus de l'HTL de 2021RAFCV2 en fonction du temps et de la température (début du palier à 300 °C au bout de 20 min ; début du palier à 350 °C au bout de 26 min).....	150
Figure III-14 : Variation du pH entre la phase aqueuse après HTL (pH _{out}) et les solutions algales de départ (pH _{in}) (DpH = pH _{out} -pH _{in}) en fonction de la température.....	151
Figure III-15: Evolution des phases et de l'analyse GPC-SEC au cours du temps (T = 270 °C) lors de la conversion du lot 2020RAFCS1 avec 10 % de MO (a) et 17 % de MO (b).....	153

Figure III-16 : Evolution des phases et de l'analyse GPC-SEC au cours du temps (T = 350 °C) lors de la conversion du lot 2020RAFCS1 avec 10 % de MO (a) et 17 % de MO (b).....	154
Figure III-17 : Evolution au cours du temps des molécules azotées pouvant mener à la formation de composés à haut poids moléculaire pendant l'HTL à un taux de 10 % de MO (a) et de 17 % de MO (b) (T = 350 °C).....	156
Figure III-18 : Evolution des distributions de produits issus de l'HTL (T = 350 °C) de 2020RAFCS3 au cours du temps à a :10 % de MO et b : 17 % de MO.....	156
Figure III-19: Rappel de la composition biochimique des lots de micro-algues.....	158
Figure III-20 : Comparaison du rendement en bio-huile (a) et en char (b) pour un procédé batch et continu (T = 300 °C, t = 15 min, %MO = 10)	159
Figure III-21 : Comparaison du taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) issus d'HTL en batch et en continu pour C. sorokiniana et C. vulgaris.....	159
Figure III-22 : Comparaison du rendement en bio-huile pour C. sorokiniana (2020RAFCS2) et C. vulgaris (2021RAFCV1) (T = 300 °C, t = 15 min, Taux de MO = 10 %)	160
Figure III-23 : Comparaison du taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) pour C. sorokiniana (2020RAFCS2) et C. vulgaris (2021RAFCV1) (T = 300 °C, t = 15 min, Taux de MO = 10 %).....	160
Figure III-24 : Comparaison des essais sur C. sorokiniana (2020RAFCS2) et C. vulgaris (2021RAFCV1) avec le diagramme de Van Krevelen des bio-huiles produites en continu (rond) et en batch (étoile) en comparaison avec la biomasse de départ (croix) ; a : H/C en fonction de N/C et b : H/C en fonction de O/C (ratios molaires)	161
Figure III-25 : Effet de l'augmentation de la température sur le rendement massique en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b) pour un essai continu avec C. vulgaris.....	162
Figure III-26 : Schéma de synthèse de la réactivité des composants des micro-algues.....	164
Figure III-27 : Composition biochimique des lots en considérant l'analyse des sucres totaux (a) et en considérant le taux de carbohydrates comme étant égal à 100 - (%protéines + %lipides + %cendres) (b).....	165
Figure III-28 : Valeurs expérimentales appliquées au modèle de Aierzhati et al. [8] (a) et de Jie Yang et al. [21] (b).....	166
Figure III-29 : Application du modèle de Li et al. (2017) [22] aux essais à 300 °C et 30 min réalisés au laboratoire sur C. sorokiniana (RAFCS10) et C. vulgaris (RAFCINV10) pour le rendement en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b).....	167
Figure III-30 : Régression linéaire pour prédire le rendement en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b).....	169
Figure III-31 : Test de la régression linéaire sur les données de : a : déchets de l'industrie agro-alimentaire (drêches de cassis : BCP et de brasserie : BSG), b : déchets alimentaires (FW)	170
Figure III-32 : Ecart entre la valeur du rendement en bio-huile (%) prédite par la régression linéaire et la valeur expérimentale pour les essais en continu	170
Figure III-33 : Application des données issues de la littérature sur le modèle de régression linéaire a : sur les déchets alimentaires [8,26–31], b : sur les micro-algues	171
Figure III-34 : Régression linéaire pour prédire le rendement en bio-huile (en ajoutant les acides aminés comme paramètre d'entrée)	172
Figure III-35 : Composition biochimique des lots en considérant les carbohydrates comme étant égal à 100 –(%protéines + %lipides + %cendres).....	173
Figure III-36 : Gamme des paramètres d'entrée (Dataset#1)	175
Figure III-37 : Modélisation par RF (a, b, c) et par XGB (d, e, f) pour les trois jeux de données (a, d : Dataset#1, b, e : Dataset#2, c, f : Dataset#3)	178
Figure III-38 : Application des données issues des essais batch sur le modèle XGB entraîné sur le Dataset#1	178

Figure IV-1 : Profil d'acides aminés de <i>C. sorokiniana</i> (moyenne des 3 lots : 2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4)	187
Figure IV-2 : Mécanisme de formation des DKP à partir de la dimérisation de la leucine ...	188
Figure IV-3 : Schéma réactionnel de dégradation de la leucine en conditions d'HTL (inspiré de [4,6]).....	189
Figure IV-4 : Structure chimique de l'acide glutamique avec numérotation des carbones de 1 à 5.....	190
Figure IV-5: Schéma réactionnel de dégradation de l'acide aspartique en conditions d'HTL (inspiré de [2,7,8])	191
Figure IV-6 : Schéma réactionnel de dégradation de la phénylalanine en conditions d'HTL (inspiré de [4]).....	192
Figure IV-7 : Réaction de lactamisation.....	193
Figure IV-8 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de la lysine en conditions d'HTL	194
Figure IV-9 : Réaction de déshydratation [16].....	195
Figure IV-10 : Réaction d'aldolisation (dans notre cas réaction inverse de rétro-aldolisation)	195
Figure IV-11 : Schéma réactionnel de dégradation de la sérine en conditions d'HTL (inspiré de [2,18]).....	196
Figure IV-12 : Formation d'imine.....	197
Figure IV-13 : Profil d'acides gras de <i>C. sorokiniana</i> (moyenne des 4 lots : 2020RAFCS1, 2020RAFCS2, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4).....	198
Figure IV-14 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de <i>C. sorokiniana</i> en conditions d'HTL.....	200
Figure IV-15 : Comparaison des profils d'A.A. de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i>	201
Figure IV-16 : Comparaison des profils d'AG de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i>	202
Figure IV-17: ATG (a) et DTG (b) des bio-huiles issues d'HTL du lot 2020RAFCS1 à 350 °C, 5 min et 17 % de MO.....	203
Figure IV-18 : Py CG-MS de bio-huile issue d'HTL de <i>C. vulgaris</i> [22]	204
Figure IV-19 : GPC-SEC de bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS1 à 350 °C, 20 min et 10 % de MO.....	205
Figure IV-20 : Exemple d'un chromatogramme GC-MS de bio-huile issue d'HTL de <i>C. sorokiniana</i> (2020RAFCS1) à 270 °C, 20 min et 17 % de MO	205
Figure IV-21 : Exemple d'un chromatogramme GC*GC-MS de bio-huile issue d'HTL de <i>C. sorokiniana</i> (2020RAFCS4) à 350 °C, 5 min et 10 % de MO	206
Figure IV-22 : Exemple de chromatogramme GC*GC-FID de bio-huile issue d'HTL de <i>C. sorokiniana</i> (2020RAFCS4) à 350 °C, 5 min et 10 % de MO	211
Figure IV-23 : Hydrolyse des lipides avec le profil du glycérol (vert), des acides carboxyliques (C18) (bleu), de l'heptadécane (jaune), des méthyl esters (orange) et des amides (gris) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2020RAFCS4	212
Figure IV-24 : Hydrolyse de la chlorophylle avec le profil du phytol (bleu) et du phytène (vert) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2020RAFCS4	212
Figure IV-25 : Profil des phytostérols lors d'une HTL à 350 °C avec 2020RAFCS4 (indication quand le palier est atteint).....	213
Figure IV-26 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de <i>C. sorokiniana</i> en conditions d'HTL ciblé sur la fraction légère de la bio-huile.....	214
Figure IV-27 : Extrait de la phase aqueuse issue d'HTL à 300 °C et pendant 20 min avec 2020RAFCS3, lyophilisé et redilué dans l'éthanol en vert, extrait avec du DCM en rouge..	215
Figure IV-28 : BPC (Base Peak Chromatogram) en ionisation positive et négative de bio-huile issue de l'essai en continu RAF 11 réalisé à 300 °C et pendant 15 min	218

Figure IV-29 : Chromatogramme LC-QToF de (a) : 3,6 diéthyl-pipérazine-2,5-dione ; (b) : 3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione ; (c) : 3-benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione; (d) : 1H-indole, 3-méthyl; (e) : acide 2-propenoïque, 2-phényléthyl ester, (f) : acide cinnamique	219
Figure IV-30 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de <i>C. sorokiniana</i> en conditions d'HTL ciblé sur la phase aqueuse	221
Figure IV-31 : Abondance des classes de composés azotés $N_xO_yS_z$ détectées en mode ESI(+) sur une bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS	222
Figure IV-32 : Abondance des classes de composés azotés détectées en mode ESI(-) sur une bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS	222
Figure IV-33 : distribution du DBE en fonction du rapport atomique H/C pour toutes les familles de molécules azotées de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (ESI (+)).....	223
Figure IV-34 : Evolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_2O_x (x :1 à 4) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (-))	224
Figure IV-35 : Evolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés NO_x (x :1 à 4) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (-))	225
Figure IV-36 : Evolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_x (x :1 et 2 et 4) de l'huile HTL de <i>C. sorokiniana</i> (mode ESI (+)).....	226
Figure IV-37 : Hydrolyse des lipides avec le profil des acides carboxyliques (C18) (bleu), de l'heptadécane (jaune), des méthyl esters (orange) et des amides (gris) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2021RAFCV2	227
Figure IV-38 : Hydrolyse de la chlorophylle avec le profil du phytol (bleu) et du phytène (vert) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2021RAFCV2	228
Figure IV-39 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i> en conditions d'HTL	229
Figure IV-40 : Structure de la chlorophylle	230
Figure V-1 : Essais réalisés dans le cadre de l'étude cinétique (plan d'expérience n°2).....	239
Figure V-2 : Données expérimentales des rendements en bio-huile, char, gaz et phase aqueuse obtenus après HTL de <i>C. sorokiniana</i> (2020RAFCS4) à a : 200 °C, b : 250 °C, c : 300 °C, d : 350 °C	240
Figure V-3 : Données expérimentales des rendements en bio-huile, char, gaz et phase aqueuse obtenus après HTL de <i>C. vulgaris</i> (2021RAFCV2) à a : 200 °C, b : 250 °C, c : 300 °C, d : 350 °C	240
Figure V-4 : Comparaison entre les résultats prédits par le modèle de Hietala et Savage [1] et les données expérimentales	243
Figure V-5: Schéma réactionnel pour le modèle cinétique basé sur celui de <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i> proposé en chapitre IV	245
Figure V-6 : Application de la modélisation aux données expérimentales (a : sur les 4 produits ; b : sur la bio-huile).....	256
Figure V-7 : Modélisation appliquée aux données de <i>C. sorokiniana</i> (2020RAFCS4) pour les rendements massiques en bio-huile (a), en gaz (b), en char (c) et en phase aqueuse (d) à 200, 250, 300 et 350 °C	258
Figure V-8 : Modélisation appliquée aux données <i>C. vulgaris</i> (2021RAFCV2) pour les rendements massiques en bio-huile (a), en gaz (b), en char (c) et en phase aqueuse (d) à 200, 250, 300 et 350 °C	258

Figure V-9 : Profil de dégradation des protéines et cendres et de formation des produits correspondants.....	260
Figure V-10 : Profil de dégradation des lipides et de formation des produits correspondants	261
Figure V-11 : Profil de dégradation des carbohydrates et de formation des produits correspondants.....	262
Figure V-12 : Profil de formation des produits issus de réactions intermoléculaires	263
Figure V-13 : Schéma réactionnel ciblé sur la dégradation des acides aminés et la formation de composés azotés et oxygénés (en vert : dans l'huile et dans la phase aqueuse; en orange dans l'huile et en bleu dans la phase aqueuse)	267
Figure V-14: profil des espèces azotées pour <i>C. sorokiniana</i> (à gauche) et <i>C. vulgaris</i> (à droite) à 300 et 350 °C (indication quand le palier est atteint)	270
Figure V-15 : Profil des amides chez <i>C. sorokiniana</i> (a) et <i>C. vulgaris</i> (b) à 350 °C (indication quand le palier est atteint).....	271
Figure V-16 : Profil du caprolactame en phase aqueuse d'HTL de <i>C. sorokiniana</i>	272
Figure V-17 : Profil de l'ammonium en phase aqueuse d'HTL de <i>C. sorokiniana</i>	272
Figure V-18 : Profil du γ -butyrolactone pour <i>C. sorokiniana</i> (a) et pour <i>C. vulgaris</i> (b)	273
Figure V-19 : Profil des espèces oxygénés pour <i>C. sorokiniana</i>	273
Figure V-20 : Profil du phénol en phase aqueuse d'HTL de <i>C. sorokiniana</i>	274
Figure VI-1 : Rendement en bio-huile (%), analyse élémentaire et masse moléculaire moyenne (M_w) en fonction du solvant d'extraction utilisé.....	291
Figure VI-2 : Programme de température des méthodes 1, 2, 3 et 4	292
Figure VI-3 : Comparaison des chromatogrammes de bio-huiles avec les méthodes 1, 2, 3 et 4.....	293
Figure VI-4 : comparaison de la méthode 4 et 5 (vue de tout le chromatogramme)	294
Figure VI-5 : Comparaison de la méthode 4 et 5 (zoom entre 45 et 93 min)	294
Figure VI-6 : Courbes d'étalonnage réalisées sur la GC*GC-FID pour la quantification de composés dans la bio-huile.....	295
Figure VI-7 : Courbes d'étalonnage réalisées sur la GC-MS pour la quantification de composés en phase aqueuse.....	296
Figure VI-8 : Evolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_2O_x (x :1 à 4) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (+))	312
Figure VI-9 : Profil des familles de molécules obtenus suite à la modélisation cinétique appliquée aux données de <i>C. vulgaris</i>	315

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1 : Exemples d'HTL effectuée sur le genre <i>Chlorella</i> dans la littérature (rendement et taux d'azote dans la bio-huile)	44
Tableau I-2 : Acides et amines issus de la dégradation des acides aminés pouvant mener à la formation des amides (exemple de 4 acides aminés) [49,121,124,126,136,142,144]	60
Tableau II-1 : Détails sur la culture de <i>C. sorokiniana</i>	87
Tableau II-2 : Détails sur la culture de <i>C. vulgaris</i>	88
Tableau II-3 : Valeur de la constante de Henry en fonction de la température	100
Tableau II-4 : ECN des composés dosés avec cette méthode, basé sur les valeurs de Scanlon et al. [15].....	111
Tableau II-5 : Equations reliées à l'étalonnage de molécules cibles	112
Tableau II-6 : Résumé des analyses réalisées sur les produits issus de l'HTL.....	119
Tableau II-7 : Conditions d'HTL utilisées pour l'étude des effets (niveau -1 et niveau 1).....	120
Tableau II-8 : Exemple de la matrice des effets du lot 2020RAFCS1.....	121
Tableau II-9 : Plan d'expérience n°1.....	127
Tableau II-10 : Essais en conditions optimales	127
Tableau II-11 : Plan d'expérience n°2.....	128
Tableau II-12 : Essais en continu.....	129
Tableau II-13 : Essais en réacteur batch pour comparaison du réacteur batch et continu ..	129
Tableau III-1 : Masse moléculaires moyenne (M_w) et en nombre (M_n) issues de l'analyse GPC-SEC des bio-huiles à 270 °C	154
Tableau III-2 : Masse moléculaires moyenne (M_w) et en nombre (M_n) issues de l'analyse GPC-SEC des bio-huiles à 350 °C	155
Tableau III-3 : Paramètres pris en compte pour la modélisation linéaire des données.....	167
Tableau III-4 : Composition des drêches de cassis, de brasserie et des déchets alimentaires	169
Tableau III-5 : Paramètres pris en compte pour la modélisation linéaire des données.....	172
Tableau III-6 : Jeux de données	174
Tableau III-7 : Paramètres pris en compte pour la modélisation des données	175
Tableau III-8 : Résultats des modélisations RT, RF, GB et XGB sur les 3 jeux de données	177
Tableau IV-1 : Molécules détectées en GC-MS et en GC*GC-MS (en vert : correspond à la liste de molécules proposés dans la Figure 14)	207
Tableau IV-2 : Molécules détectées en GC-MS et en GC*GC-MS.....	210
Tableau IV-3 : Identification des composés de la phase aqueuse issue d'HTL à 300 °C et pendant 20 min avec 2020RAFCS3	216
Tableau IV-4 : Molécules validées en LC-QTOF.....	220
Tableau IV-5 : Exemple de composés azotés et leur DBE associée	223
Tableau V-1 : Composition biochimique des lots utilisés pour la modélisation cinétique normalisée sur la matière organique	241
Tableau V-2 : Voies réactionnelles intégrées dans le modèle cinétique	247
Tableau V-3 : Paramètres d'entrée et grandeurs calculées pour la modélisation cinétique	255
Tableau V-4 : Constantes cinétiques issues de l'optimisation du modèle cinétique	265
Tableau V-5 : Espèces azotées et oxygénées suivies au cours du temps et de la température	268
Tableau VI-1 : Détails sur les lots de <i>C. sorokiniana</i> (composition biochimique et incertitudes (SD), taux de matière sèche (%MS), taux de cendres (%MI), composition élémentaire)	289

Tableau VI-2 : Détails sur les lots de <i>C. vulgaris</i> (composition biochimique et incertitudes (SD), taux de matière sèche (%MS), taux de cendres (%MI), composition élémentaire).....	289
Tableau VI-3 : Liste des molécules cibles (1/6).....	297
Tableau VI-4 : Liste des molécules cibles (2/6).....	298
Tableau VI-5 : Liste des molécules cibles (3/6).....	299
Tableau VI-6 : Liste des molécules cibles (4/6).....	300
Tableau VI-7 : Liste des molécules cibles (5/6).....	301
Tableau VI-8 : Liste de smolécules cibles (6/6).....	302
Tableau VI-9 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MO) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais du plan d'expérience n°1	303
Tableau VI-10 : Rendement en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MO) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais en continu	304
Tableau VI-11 : Correspondance des familles moléculaires.....	313
Tableau VI-12 : Masses molaires considérées pour le calcul des facteurs massiques	314
Tableau VI-13 : Calcul des facteurs de masse f.....	314
Tableau VI-14 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MS) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais du plan d'expérience n°2	316
Tableau VI-15 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MS) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais complémentaires	317

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

EnR :	Énergies Renouvelables
RED :	Directive des énergies renouvelables (Renewable Energy Directive)
C. :	Chlorella
PNNL :	Pacific Northwest National Laboratory
MFSP :	Prix minimum de vente du fuel (Minimum Fuel Selling Price)
HTL :	Liquéfaction hydrothermale (HydroThermal Liquefaction)
PBR :	PhotoBioRéacteur
A.A. :	Acides Aminés
FAMES :	Esters d'acides gras (Fatty Acids Methyl EsterS)
AG :	Acides Gras
N :	Azote
P :	Phosphore
S :	Soufre
DCM :	Dichlorométhane
MI :	Matière Inorganique
MO :	Matière Organique
MS :	Matière Sèche
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à spectrométrie de masse (Gaz Chromatography-Mass Spectrometry)
GC-FID :	Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (Gas Chromatography-Flame Ionisation Detector)
GPC-SEC :	Chromatographie par perméation de gel ou chromatographie d'exclusion stérique (Gel Permeation Chromatography-Size Exclusion Chromatography)
Py-GC-MS :	Pyrolyse couplée à une chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à spectrométrie de masse
Rpm :	Rotation par minute
ts :	Temps de séjour
RT :	Arbre de régression (Regression Tree)
DT :	Arbre de décision (Decision Tree)
RF :	Forêt d'arbre de décision (Random Forest)
GB :	Amplification de gradient (Gradient boosting)
XGB :	Extreme gradient boosting
M _w :	Masse moléculaire moyenne (Dalton)
M _n :	Masse moléculaire en nombre (Dalton)
ECN :	Nombre de carbone effectif (Effective Carbon Number)
RRF :	Facteur de réponse relatif (Relative Response Factor)

Introduction

Les micro-algues attirent aujourd'hui l'attention dans de nombreux domaines, que ce soit pour la valorisation de molécules d'intérêts dans le domaine cosmétique, en remplacement des sources protéiques animales, en compléments alimentaires ou dans le domaine de l'énergie. Ce dernier secteur nous intéressera particulièrement au cours de cette thèse. Les problématiques environnementales actuelles engendrent de nouveaux besoins, notamment dans le remplacement des énergies fossiles et dans la diminution des émissions de gaz à effet de serre. Il est nécessaire de se tourner vers de nouvelles alternatives en terme de production d'énergie. Les biocarburants sont une des solutions aujourd'hui considérée, et plus particulièrement le traitement des micro-algues par des procédés hydrothermaux.

Cette thèse s'est focalisée sur l'utilisation du procédé de liquéfaction hydrothermale (HTL) en vue de produire des biocarburants. Une des particularités de ce procédé est le traitement de la biomasse humide, elle peut être utilisée telle quelle ou diluée à une certaine concentration dans l'eau avant d'être traitée. La biomasse considérée, ici les micro-algues, est transformée à environ 300 °C, 100 bars, pendant 5 à 60 min et à une concentration entre 10 et 17 % en matière organique. Ces paramètres sont adaptés selon la ressource utilisée et les objectifs de production. Au cours de la réaction, trois produits sont formés : un résidu brut ou « biocrude » d'aspect noir et visqueux qui est en fait un mélange de bio-huile, notre produit d'intérêt, et de solide aussi appelé « char » ; une phase aqueuse et une phase gazeuse, principalement composée de CO₂. Une étape de séparation de la bio-huile et du char est donc nécessaire après réaction.

Une attention particulière sera donnée à la bio-huile en vue de son utilisation, après raffinage, en tant que biocarburant. La présence de composés azotés dans les micro-algues mène à la formation de molécules cycliques azotées dans la bio-huile et, si elles ne sont pas retirées lors de l'étape de raffinage, d'oxydes d'azotes après combustion. Hors, la plupart des composés azotés présents dans la bio-huile sont néfastes pour les catalyseurs utilisés lors de l'étape de raffinage et donc difficiles à éliminer. La compréhension de la formation des composés azotés sera donc particulièrement développée dans ce manuscrit.

Ce travail de thèse, réalisé au sein de l'équipe du Laboratoire Réacteur et Procédé (LRP) au Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA) de Grenoble, s'inscrit dans le cadre du projet ANR RAFBIOALG dont l'objectif est d'étudier une filière de production complète de biofuel à partir de micro-algues. Quatre autres centres de recherche sont impliqués dans ce projet à différentes étapes de la filière : le CEA de Cadarache, l'Institut de Recherches sur la Catalyse et l'Environnement de Lyon (IRCELYON), le Complexe de

Recherche Interprofessionnel en Aérothermochimie (CORIA) basé à Rouen et le Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) situé à Narbonne.

L'équipe associée à la plateforme 3MicroAlgae Processes au CEA de Cadarache sélectionne les souches de micro-algues les plus intéressantes pour avoir un rendement en bio-huile élevé en sortie d'HTL et une bio-huile pauvre en azote. Une des spécificités liées à l'utilisation des micro-algues est leur variabilité en terme de composition. La composition macromoléculaire en protéines, lipides et carbohydrates peut être orientée selon les conditions de culture. Des contraintes d'ensoleillement ou de limitations en nutriments peuvent engendrer un stress pour certaines espèces et orienter les voies métaboliques vers un stockage d'énergie soit sous forme de lipides, soit sous forme de carbohydrates. Un des objectifs associé à la culture des micro-algues est donc de trouver des conditions de culture propices à la production de lipides tout en gardant une productivité élevée. En effet, ces macromolécules riches en carbone et pauvres en azote forment des composés à forte valeur énergétique après liquéfaction hydrothermale. Deux souches de micro-algues ont donc été sélectionnées pour leur composition et leur forte croissance : *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris*. Une thèse focalisée sur la gestion de la phase aqueuse en sortie d'HTL est également réalisée dans cette équipe par Adriana RAMIREZ ROMERO. Son but est d'étudier la culture des micro-algues en phase aqueuse d'HTL et leur adaptation aux molécules néfastes à leur croissance telles que les molécules cycliques azotées ou oxygénées en vue d'un possible recyclage de la phase aqueuse d'un point de vue industriel.

Le CEA de Grenoble est ensuite sollicité pour étudier la production de bio-huile par HTL à partir de micro-algues. Ce travail est présenté à travers ce manuscrit, les objectifs seront donc présentés par la suite.

Le raffinage des bio-huiles produites en sortie d'HTL est ensuite étudié à travers la thèse de Bruno MAGALHAES. Différents catalyseurs et conditions d'hydrotraitement sont étudiés afin de maximiser les rendements et de réduire la quantité en hétéroatomes (oxygène et azote principalement) dans le produit final.

Les travaux du CORIA ont finalement pour but de tester les bio-huiles raffinées en combustion afin d'étudier leur efficacité en terme de production d'énergie. A un niveau plus global, le LBE regroupe les informations nécessaires à l'étude de la chaîne de procédé d'un point de vue environnemental. Notamment pour évaluer les impacts des différents acteurs sur l'environnement en effectuant une analyse du cycle de vie du biofuel produit par HTL de micro-algues.

Ce travail de thèse s'intègre donc à la seconde étape de la chaîne du procédé liée à la production de bio-huile par liquéfaction hydrothermale (HTL). Le développement du procédé à grande échelle est aujourd'hui limité par de nombreux facteurs. La présence de molécules azotées réfractaires au raffinage en fait partie. Comme évoqué précédemment, une étape de raffinage de la bio-huile sera nécessaire en sortie de liquéfaction. Le raffinage permet d'améliorer les propriétés physiques de la bio-huile en augmentant la volatilité, la stabilité thermique et en ajustant la viscosité. Ces paramètres sont modifiés en diminuant la proportion d'oxygène et de molécules à haut poids moléculaire par une réaction d'hydrotraitement. Le raffinage permet également de réduire la présence d'azote et de soufre dans la bio-huile qui mènent à une instabilité thermique et de stockage mais également à la formation de dépôts et de gaz indésirables lors de la combustion.

Par ailleurs, la proportion élevée d'azote dans les bio-huiles issues d'HTL de micro-algues endommage le catalyseur utilisé lors du raffinage, les paramètres du procédé seront donc fixés dans le but de diminuer au maximum la présence d'hétéroatomes et ainsi faciliter la production d'un biocarburant de bonne qualité. De plus, un haut rendement en bio-huile est nécessaire pour limiter l'impact environnemental et assurer un coût final du biocarburant raisonnable. Pour cela, la modélisation du procédé est un outil indispensable pour évaluer la faisabilité de la chaîne de procédé à échelle industrielle. La prédiction du rendement en bio-huile et de la composition (notamment du taux d'azote) en fonction de la ressource et des paramètres de liquéfaction peut s'effectuer par des modélisations simples par régression linéaire, des modèles plus mathématiques en utilisant des outils de *machine learning* ou plus détaillés grâce à la prise en compte du schéma réactionnel et à la modélisation cinétique. Ces différents aspects seront abordés à travers les chapitres suivants :

- **Chapitre 1** : Etat de l'art

Ce chapitre introduit les différents enjeux environnementaux actuels liés à la transition énergétique et expose le développement des biocarburants, en ciblant spécifiquement la production de biocarburants à partir de micro-algues. La complexité de la biomasse est ensuite mise en avant en décrivant la composition macromoléculaire de celle-ci. Le procédé de liquéfaction hydrothermale est décrit en détails afin de bien comprendre les conditions réactionnelles et les avancées dans ce procédé. Et pour finir, une partie est dédiée à la réactivité de la biomasse en conditions d'HTL et aux modélisations proposées actuellement dans la littérature.

- **Chapitre 2** : Matériel et méthodes

Les différents lots de micro-algues utilisés sont décrits ici, autant à travers leurs conditions de culture que par leur composition élémentaire ou macromoléculaire. Les installations utilisées sont ensuite décrites avec les méthodes de traitement de résultats liées au calcul des rendements massiques des produits et des bilans carbone et massiques de chaque essai. Les méthodes analytiques ainsi que les appareils utilisés pour la caractérisation des produits sont également renseignés dans ce chapitre. Et finalement, les méthodes liées aux différents outils de modélisation sont abordées.

- **Chapitre 3** : Effets de la composition de la biomasse et des conditions opératoires sur la formation de bio-huile

Ce premier chapitre de résultats met en évidence les effets de la composition de la biomasse et des paramètres d'HTL sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote pour deux biomasses caractéristiques, une riche en protéines et l'autre riche en lipides. Ces observations sont appliquées à des essais menés dans le réacteur continu. Et pour finir, des modélisations par régression linéaire et *machine learning* valorisant l'ensemble des essais batch sont effectuées et comparées afin d'évaluer leur efficacité en termes de prédiction du rendement en bio-huile.

- **Chapitre 4** : Réactivité de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris* en conditions d'HTL : analyse de la bio-huile et de la phase aqueuse

L'objectif de ce 4^{ème} chapitre est de comprendre d'un point de vue réactionnel la dégradation de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris* en conditions de liquéfaction hydrothermale. Cela passe par l'analyse des bio-huiles et de la phase aqueuse mais aussi par une étude bibliographique détaillée concernant les réactions de dégradation des composés de la biomasse de départ et plus particulièrement des acides aminés. Ce chapitre aboutit donc à un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris* en conditions d'HTL.

- **Chapitre 5** : Modélisation cinétique

Ce dernier chapitre présente un schéma cinétique en lien avec le schéma réactionnel proposé en chapitre 4 et discute des résultats obtenus suite à cette modélisation cinétique. De plus, il expose différents profils d'espèces azotées ou oxygénées afin d'émettre des hypothèses quant à leurs conditions de formation.

Pour finir, les conclusions et perspectives rassembleront les principaux résultats observés dans chaque chapitre et amèneront des suggestions quant aux futures recherches à réaliser dans ce domaine pour améliorer la modélisation cinétique.

Chapitre I : Etat de l'art

La société évolue aujourd'hui dans un monde où l'énergie est au cœur des activités. Le secteur des transports et des industries se place en première place avec plus de la moitié de la consommation énergétique en 2019 (Figure I-1) [1]. L'augmentation de la population accentue également cette demande, on prévoit 8,55 milliard de personnes sur Terre en 2030 et un peu plus de 9,5 milliards en 2050 [2]. Il est donc nécessaire de trouver des sources d'énergie et des procédés à haut rendement permettant à la fois de répondre aux besoins de la population tout en gardant en tête les enjeux environnementaux associés [3].

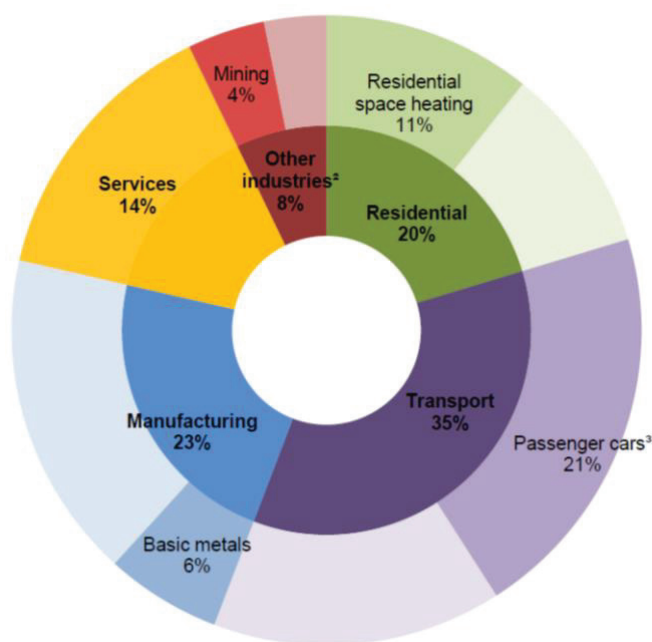


Figure I-1 : Consommation énergétique par secteur en 2019 (étude basée sur 19 pays : Australie, Autriche, Canada, République Tchèque, Finlande, France, Allemagne, Hongrie, Italie, Japon, Corée, Luxembourg, Nouvelle-Zélande, Pologne, Portugal, Espagne, Suisse, Angleterre et Etats-Unis ; données de 2018 incluses pour le Canada et l'Italie ; ² Inclut l'agriculture, les exploitation minières et les constructions ; ³ Inclut les voitures, les véhicules utilitaires de sport et les camions à utilité personnelle) [1]

Quelle que soit la forme de l'énergie (électricité, chaleur, carburants etc.), les ressources nécessaires à leur production proviennent de la nature soit sous forme fossiles avec le charbon, le pétrole ou le gaz naturel, soit sous forme nucléaire avec l'uranium ou renouvelables avec le soleil, le vent, l'eau et la biomasse [4]. Les ressources fossiles représentent en 2020 plus de 80 % de la consommation mondiale en énergie et 93 % de l'énergie utilisée dans les transports [5,6] or, elles ont été produites naturellement par la Terre en quantité finie et mettent des milliers d'années à se renouveler. En utilisant ces ressources, on puise donc dans les réserves de la planète tout en consommant à une vitesse bien trop élevée pour une utilisation durable dans le temps [4,7,8]. De plus, les réserves pétrolières sont détenues par un petit nombre de pays faisant parti de l'Organisation des Pays Exportateurs

de Pétrole (OPEP) et plus particulièrement par les pays pétroliers du Moyen-Orient, ce qui oblige de nombreux pays à importer [7,9]. Afin d'assurer l'approvisionnement en ressources énergétiques et de limiter la pression commerciale et politique provoquée par l'importation de pétrole, l'exploitation des ressources renouvelables s'avère indispensable.

Cependant, faire le choix d'une ressource renouvelable n'exclut pas la pollution engendrée par son utilisation. La biomasse, par exemple, permet de produire des biocarburants qui seront ensuite utilisés en grande partie dans le domaine des transports sous forme de carburants liquides ou gazeux puis brûlés [4]. De plus, les nouvelles habitudes de déplacement de la population et le fait qu'elle ne cesse d'augmenter chaque année accentue les besoins énergétiques dans ce domaine. Par conséquent, on observe une augmentation du phénomène d'effet de serre et des pluies acides, une forte concentration en ozone dans les villes, la présence de particules affectant la qualité de l'air et un réchauffement considérable de notre planète [4,7]. Les gaz responsables de cet effet de serre sont principalement la vapeur d'eau, le CO₂ et le méthane [4]. Une hausse de plus de 18000 Mt d'émission de CO₂ a effectivement été observée entre 1973 et 2019 (Figure I-2) [1]. En 2020, la crise du COVID-19 a ralenti ce phénomène avec la restriction des modes de déplacements locaux et internationaux, les émissions de CO₂ liées aux dépenses énergétiques ont chuté de 5,8 %. Cependant, on peut s'attendre pour les prochaines années à une hausse des émissions similaires aux années précédentes si aucun changement n'est fait concernant la consommation et la production d'énergie [6,10].

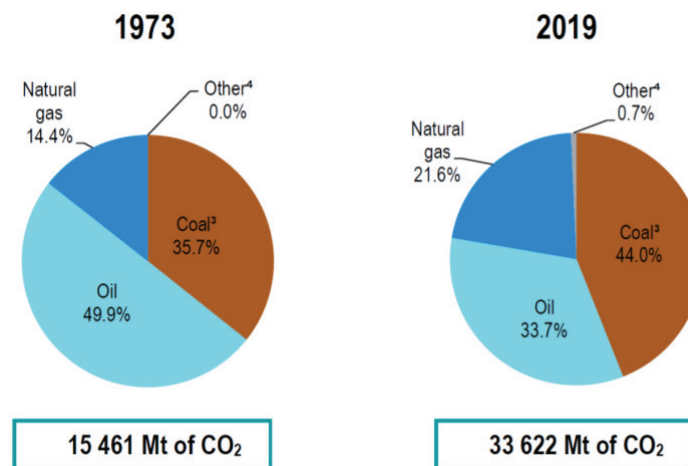


Figure I-2 : Evolution des émissions de CO₂ dues à la combustion de fuel entre 1973 et 2019 [1]

Le CO₂ étant l'un des gaz les plus émis, sa diminution entraînerait une plus forte probabilité de limiter le réchauffement à 1,5 °C, température fixée par l'Accord de Paris en 2015 et considérée comme température limite avant d'observer des changements extrêmes pour l'homme et l'environnement [4,11,12].

Ce premier chapitre aborde tout d'abord le développement des biocarburants et décrit plus en détails ceux de 3^{ème} génération produits à partir de micro-algues. Une description de la ressource et du procédé de liquéfaction hydrothermale est ensuite faite afin de comprendre l'intérêt d'utiliser cette technologie et les enjeux actuels. Pour finir, la réactivité des micro-algues en conditions de liquéfaction hydrothermale et les avancées en terme de modélisation des résultats pour prédire les rendements associés au procédé sont présentées.

1. Des carburants d'origine fossile aux biocarburants de 3^{ème} génération

Afin de comprendre l'intérêt des biocarburants par rapport aux carburants issus de ressources fossiles, les propriétés de ces derniers ainsi que leur méthode de production sont rapidement décrites ci-dessous.

Le pétrole brut, composé principalement d'hydrocarbures, est la matière première utilisée pour produire les carburants d'origine fossile. Cette ressource est formée à partir de résidus organiques appelés « kérogène » préservés dans des environnements dépourvus d'oxygène et qui forment la roche-mère. Dans les conditions de hautes températures et sous pression (entre 2500 m et 5000 m de profondeur), un craquage thermique a lieu et forme le pétrole liquide qui va pouvoir être récupéré après avoir migré dans des roches réservoir accessibles par forage. Après avoir été extrait, le pétrole subit un fractionnement par distillation afin de récupérer différentes fractions : les produits légers (gaz et essences), les produits moyens (kérosène et diesel), les fiouls lourds et les bitumes [9,13,14]. Finalement de nombreux produits sont formés et peuvent être valorisés dans le domaine des transports ou de la pétrochimie. Les deux grandes familles de carburants qui peuvent être remplacées ou enrichies en biocarburants sont l'essence et le diesel. Le diesel est un mélange d'hydrocarbures composé à 75 % en masse de composés qui ont entre 10 et 18 carbones [9,15].

Le développement des biocarburants n'a cessé de s'accroître ces dernières années, ils représentent en 2018, 4 % de la consommation énergétique mondiale [16]. Mais leur apparition ne date pas d'aujourd'hui, dès la fin du XIX^{ème} siècle un remplacement des énergies fossiles par de la biomasse végétale a été envisagé et ce n'est que dans les années 1920 à 1950, aux Etats-Unis, que l'utilisation d'éthanol, produit notamment à partir du sucre de betterave, a décollé. L'indépendance énergétique et les enjeux commerciaux étaient déjà les points clés à cette transition [9]. A partir des années 2000, l'Agence Internationale de l'Energie (AIE), le

Department of Energy (DOE) des Etats-Unis et l'Union Européenne (UE) prédisent une forte augmentation de la demande en énergie primaire intimement liée à l'accroissement de la demande mondiale en pétrole. Afin de pallier aux problématiques engendrées par l'utilisation de ressources fossiles et notamment leur quantité limitée, les carburants alternatifs se sont développés. En 2009, la *Renewable Energy Directive* (RED) a défini des objectifs pour 2020, dont l'insertion de 10 % d'énergies renouvelables (EnR) dans les transports. En 2015, la loi de la transition énergétique pour la croissance verte promeut une réduction de l'utilisation des énergies fossiles et favorise l'utilisation de biocarburants « avancé ». Finalement la dernière directive en date, nommée RED II fixe un objectif de 14 % d'EnR dans le domaine des transports en 2030 et l'insertion de 3,5 % de biocarburants avancés dans les carburants [17–21].

La France possède une place intéressante dans le développement des biocarburants comme le biodiesel, c'est le 4^{ème} producteur mondial après les USA, le Brésil et l'Allemagne [18]. L'intérêt pour les biocarburants dédiés au transport aériens (biokérosène ou biojet) prend également de plus en plus d'importance car le trafic aérien représente environ 11 % de la consommation de carburants au niveau mondial [22]. L'engagement pour la croissance verte en 2017 a fixé un objectif de 2 % d'incorporation dans les carburants en 2025, 5 % en 2030 et 50 % en 2050 [18]. A terme, l'utilisation de biocarburants dans l'aviation permettrait de réduire de 50 à 80 % les émissions de gaz à effet de serre par rapport au kérosène utilisé actuellement [21,22].

Les biocarburants sont des carburants produits à partir de déchets ou de biomasse végétale renouvelable et cultivable localement. La biomasse est considérée comme renouvelable dès lors que son temps de croissance et de régénération est assez rapide pour répondre aux besoins énergétiques de la population. Son utilisation s'intègre aussi dans les objectifs visant à réduire les émissions de CO₂. Les végétaux ont effectivement la capacité de capter le CO₂ présent dans l'air et de le convertir par photosynthèse en molécules carbonées ayant un fort potentiel énergétique. La « fermeture du cycle du carbone » est alors évoquée, l'idée est de considérer que le carbone rejeté par la combustion de biocarburants est réutilisé pour la photosynthèse, le bilan carbone est donc théoriquement nul [4,9].

Les biocarburants peuvent s'apparenter soit à l'essence avec l'éthanol ou le méthanol soit au diesel avec le biodiesel, composé principalement d'esters méthyliques/éthyliques d'acides gras (EMAG/EEAG) pour ceux de 1^{ère} ou 2^{ème} génération [17,18,23].

Les ressources impliquées pour produire des biodiesels sont particulièrement riches en lipides. Les ressources alimentaires ou animales ont tout d'abord été ciblées avec les biocarburants de 1^{ère} génération et suite à différentes problématiques (utilisation de terres

arables, de fertilisants, d'eau etc.), les biocarburants de 2^{ème} et 3^{ème} génération, aussi appelés biocarburants « avancés », se sont développés. Ces derniers utilisent respectivement des déchets agricoles ou des cultures dédiées (plantes ligneuses, herbacées : Miscanthus...) et des micro-algues [3,4,17,18].

Ces dernières se démarquent des autres ressources par leur forte capacité à capter le CO₂, (~1.8 kg/kg d'algues) [24,25], leur rendement par hectare élevé et leur fort taux de croissance (~20 g/m²/j). Les émissions de CO₂, l'utilisation de terres arables et l'impact sur la biodiversité sont donc limités en utilisant raisonnablement l'espace [25–28]. De plus, l'efficacité photosynthétique des micro-algues peut atteindre 8,3 % (contre 4,6 % pour la plupart des végétaux), autrement dit, elles sont capables de transformer 8,3 % de l'énergie solaire reçue en molécules carbonées [29].

La diversité des micro-algues en terme de composition permet de se positionner à la fois dans la production de biodiesel pour celles riches en lipides mais aussi de bioéthanol pour celles plus riches en carbohydrates. D'autres types de carburants peuvent aussi être produits à partir de micro-algues, comme le biokérosène ou le biogaz, riche en méthane [3,22,25,28]. On s'intéressera ici à la transformation des micro-algues en biodiesel par leur similarité avec les huiles raffinées produites en sortie de liquéfaction hydrothermale. La méthode la plus couramment utilisée est la voie d'extraction des lipides et de transestérification [3,17,25]. Cependant, il est possible de valoriser les algues dans leur intégralité [25,30] (et pas seulement les lipides) en produisant une bio-huile par des procédés thermo-chimiques, comme la pyrolyse ou la liquéfaction, qui sera ensuite raffinée. La pyrolyse est un procédé qui traite la biomasse sèche (maximum 20 % d'humidité) à environ 500 °C à pression atmosphérique alors que la liquéfaction se base sur une conversion de biomasse humide aux alentours de 300 °C à une pression de 100 bar [25]. La voie de liquéfaction hydrothermale, choisie dans le projet RAFBIOALG sera d'avantages détaillée dans la partie 3.

Il existe aujourd'hui des verrous au développement des biocarburants de 3^{ème} génération par liquéfaction hydrothermale, notamment vis-à-vis du coût production. La plupart des rapports technico-économiques se basent sur des modèles de bioraffinerie, visant à être autonomes énergétiquement et à valoriser tous les co-produits [3,17,31]. Pour la production de biodiesel par liquéfaction hydrothermale de micro-algues on considère la plupart du temps une première étape de culture, de récolte et de concentration, suivi par un procédé de liquéfaction où les phases aqueuse, gazeuse et solide sont valorisées respectivement dans l'alimentation du milieu de culture, en supplément du CO₂ apporté aux algues et dans la récupération du phosphore ou comme engrais pour la phase solide (Figure I-3) [32,33]. La phase aqueuse peut également être traitée par gazéification hydrothermale en vue de produire

de l'hydrogène pour alimenter l'étape de raffinage ou par digestion anaérobie [32]. Et un des avantages à utiliser les micro-algues est le fait que la biomasse ne doit pas être broyée avant la liquéfaction, une simple dilution suffit.

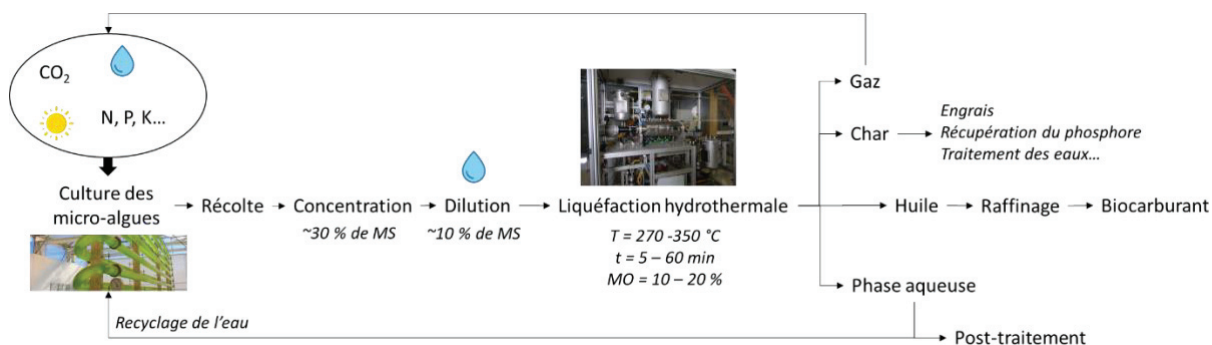


Figure I-3 : Exemple de bioraffinerie dédiée à la production de biocarburant par liquéfaction hydrothermale de micro-algues

De nombreuses études mentionnent le fait que la production de micro-algues est l'étape la plus coûteuse de la chaîne de production de biocarburants [31,33], ces coûts sont principalement dus aux installations, au pompage du CO₂, aux mélangeurs et aux intrants pour le milieu de culture [28,29,33,34]. Les coûts liés aux intrants peuvent être réduits en recyclant l'eau issue de liquéfaction hydrothermale. Si on considère toute la chaîne de production, les coûts liés aux installations et aux dépenses énergétiques sont majoritaires, que ce soit pour la méthode de concentration après récolte, la liquéfaction hydrothermale [35,36] et l'hydrotraitement. Lors de cette dernière étape, des coûts supplémentaires sont ajoutés par l'utilisation de catalyseurs [29,33]. Afin d'évaluer la pertinence de la production de biocarburant à échelle industrielle, le prix de vente minimum du fuel (Minimum Fuel Selling Price, MFSP) peut être défini. C'est le prix minimum auquel le fuel peut être vendu en ne faisant pas ou très peu marge. L'étude de Zhu et al. (2019) a montré que les facteurs ayant le plus d'impacts sur le MFSP sont la culture et le rendement en biocrude pour l'HTL [32], le prix de vente est évalué aujourd'hui entre 0,5 et 50 euros le kg [24].

D'un point de vue de l'impact environnemental, la culture est l'étape la plus problématique par rapport à la gestion de l'eau et sa pollution, l'utilisation de fertilisants et l'apport en CO₂ nécessaire à la croissance des algues. Le raffinage est la deuxième étape qui a le plus d'impact sur l'environnement.

Concernant l'HTL, l'effet le plus considérable sur les émissions de gaz à effet de serre est relié à la consommation énergétique, on va donc chercher à optimiser les conditions (température et temps de séjour) pour arriver à un compromis entre un rendement important et une faible consommation énergétique [37–39]. Par exemple, He et al. (2018) se sont intéressés à la liquéfaction hydrothermale de *Chlorella pyrenoidosa* en réalisant deux ou

plusieurs paliers de températures afin de diminuer la consommation énergétique due aux hautes températures, cependant des différences en termes de réactivité ont été observées par rapport à l'HTL directe, ce qui nécessite d'autres études [40]. L'impact environnemental global peut également être réduit en minimisant le taux d'azote dans la bio-huile car il est difficilement transformé à l'étape du raffinage et engendre donc des émissions toxiques [39]. Du point de vue du procédé, des études ont mis en avant l'importance de réaliser l'HTL au même endroit que la culture des algues pour éviter le transport d'une grande quantité d'eau [41] et du recyclage de la phase aqueuse en sortie d'HTL pour la culture des algues [37–39,42]. Pour finir, peu de procédé en continu intègrent l'étape d'extraction de la bio-huile [43]. L'utilisation de solvant toxiques pour l'homme et l'environnement est effectivement peu envisageable dans un procédé industriel, une méthode mécanique de filtration à chaud serait préférable [35,44].

La production de biocarburants de 3^{ème} génération est donc encore aujourd'hui à l'étape de recherche et développement [17]. Les principales problématiques économiques et environnementales ont été identifiées et le manque de compréhension sur la réactivité en conditions d'HTL en fait partie. Que ce soit pour produire une bio-huile avec un faible taux d'azote et un haut rendement mais aussi pour le recyclage de la phase aqueuse qui nécessite d'avoir une composition adéquate à la culture des algues. Le lien entre les micro-algues et les produits de liquéfaction sera donc abordé dans la suite de ce chapitre en commençant par la complexité de cette ressource en terme de composition.

2. La ressource : les micro-algues

Les macro ou micro-algues sont principalement composées de protéines, lipides et polysaccharides et contiennent entre 35,2 % et 57 % de carbone, 24 et 35 % d'oxygène, 6 à 9 % d'hydrogène et entre 2 et 12 % d'azote, la quantité de soufre n'excède pas 1,5 %. Ces cellules photosynthétiques produisent également de nombreux pigments. On distingue cependant les micro- et macro-algues.

Les macro-algues, le plus souvent récoltées en mer, ont généralement une quantité plus importante de polysaccharides que les micro-algues (environ 60 % contre 30-40 % pour les micro-algues) [9,28,45]. Raikova et al. (2019) [45] ont regroupé toutes les HTL réalisées sur les macro-algues depuis 1988. Certaines problématiques sont spécifiques à cette ressource, comme la taille des particules pour un passage à échelle industrielle et le fait qu'elles produisent peu de lipides [45,46]. Les micro-algues peuvent être d'eau douce ou marine, il existe plus de 200 000 espèces différentes et on peut distinguer les procaryotes, comme les

cyanobactéries et les eucaryotes [28]. Elles sont composées de diverses molécules valorisables aussi bien dans le domaine des cosmétiques, de la nutrition humaine ou animale et de l'énergie [9,28].

Que ce soit pour les macro ou micro-algues, leur composition est fortement liée aux conditions de cultures et notamment à la quantité d'azote présente dans le milieu nutritif. En conditions normales, elles ont besoin de CO₂, de lumière et de nutriments tels que l'azote, le phosphore ou le soufre [48]. Cependant, des conditions de stress et notamment de carences en azote peuvent être appliquées [49]. Les algues vont alors mettre en place des mécanismes de défense pour stocker l'énergie soit sous forme de lipides soit sous forme d'amidon [48,50,51]. Les diatomées et les algues vertes sont connues pour avoir la capacité d'accumuler les lipides, lors de carence en silice et en nitrate respectivement. Cependant ces carences entraînent généralement une baisse en terme de productivité (croissance de la biomasse) et de synthèse des protéines [52]. Les micro-algues qui combinent à la fois une bonne accumulation des lipides et un fort taux de croissance, les plus souvent utilisées pour produire des biocarburants, sont les genres *Dunaliella*, *Chlorella* et *Scenedesmus*. Les espèces *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris* ont été choisies pour le projet RAFBIOALG, leur composition sera détaillée dans le Chapitre II.

Les lipides, protéines et carbohydrates sont souvent considérés dans leur globalité dans les schémas réactionnels d'HTL mais il existe de nombreuses différences au sein de ces macromolécules qui ont un impact sur les produits formés en sortie d'HTL. La composition des micro-algues est donc détaillée dans les parties suivantes.

2.1. Les protéines

La quantité en protéines dans les micro-algues excède la plupart du temps 50 % de la matière sèche, elle représente donc le principal constituant de la cellule [53]. Ce sont des macromolécules composées d'acides aminés (A.A.) reliés entre eux par des liaisons peptidiques entre le groupement amine et acide [54]. Un acide aminé est composé d'un atome de carbone lié à un groupement amine et à un groupement acide carboxylique, ce qui leur confère leur caractère basique et acide. C'est leur chaîne latérale variable qui les distingue les uns des autres (Figure I-4). Les acides aminés peuvent aussi être libres (non liés à une protéine) dans les cellules, ils représentent environ 40 % de l'ensemble des A.A. [49,55].

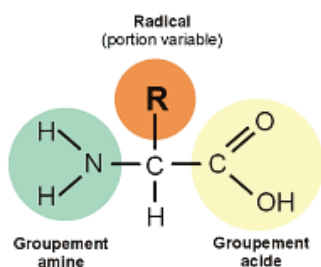


Figure I-4 : Structure d'un acide aminé

Ils peuvent être classés en fonction de leur polarité et de leur fonction réactionnelle en 6 groupes : les acides aminés hydroxylés (sérine (*Ser*), thréonine (*Thr*)) ; aliphatiques (glycine (*Gly*), alanine (*Ala*), proline (*Pro*), valine (*Val*), isoleucine (*Ileu*), leucine (*Leu*)) ; acides (acide aspartique (*Asp*) et glutamique (*Glu*)) ; basiques (histidine (*His*), lysine (*Lys*), arginine (*Arg*)) ; aromatiques (tyrosine (*Tyr*), tryptophane (*Trp*), phénylalanine (*Phe*)) ; soufrés (cystéine (*Cys*), méthionine (*Met*)). La répartition des acides aminés détectés dans *Chlorella sorokiniana* est représentée en Figure I-5 et la structure des différents acides aminés est rappelée en annexe 1.

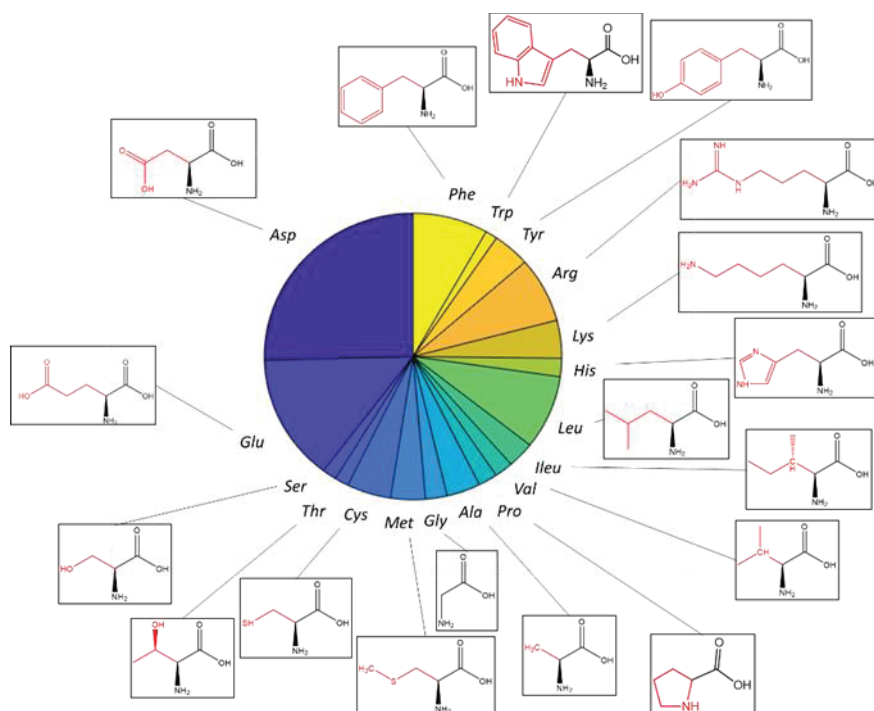


Figure I-5 : Profil d'acides aminés de *C. sorokiniana*

Comme on peut l'observer dans *C. sorokiniana*, les acides aminés acides (aspartiques et glutamiques) sont les deux acides aminés les plus souvent retrouvés dans les micro-algues, suivi par la leucine (A.A. aliphatique), la phénylalanine (A.A. aromatique) et l'arginine (A.A. basique) [56–58]. Leur structure spécifique implique des différences en terme de réactivité lors de la liquéfaction hydrothermale. Ce point sera abordé dans le Chapitre IV.

2.2. Les lipides

Les lipides sont naturellement présents à un taux pouvant varier entre 5 et 20 % dans les micro-algues. Ce sont des molécules essentielles au fonctionnement des cellules, elles permettent de stocker l'énergie (sous forme de triglycérides), de consolider la membrane cellulaire (plus ou moins rigide) mais également d'envoyer des signaux, c'est le lien entre l'intérieur et l'extérieur d'un organisme [55,59,60]. Les lipides peuvent également transmettre des informations à travers les différentes cellules en se liant aux protéines et en activant des récepteurs. Ils sont soit hydrophobes soit amphipathiques s'ils contiennent à la fois un groupement polaire et un groupement apolaire, comme les phospholipides [55].

Les acides gras sont les principaux constituants des lipides, ce sont des molécules formées de chaînes hydrocarbonées terminées par une fonction acide carboxylique. Ils se trouvent rarement à l'état libre et sont le plus souvent reliés à un glycérol sous forme de triglycéride. Dans les micro-algues, les acides gras les plus souvent retrouvés ont entre 12 et 22 atomes de carbones avec différents degrés d'insaturation, l'acide palmitique (16:0) et stéarique (18:0) sont les acides gras saturés les plus courants [48] et l'acide linoléique (18 :2n-6¹), alpha-linoléique (ALA) (18 :3n-3), eicosapentaénoïque (EPA) (20 :5n-3) et docosahexaénoïques (DHA) (22 :6n-3) sont les polyinsaturés les plus abondants dans les algues [49,55,60]. Les triglycérides, peuvent être homogènes avec 3 acides gras similaires ou hétérogènes dans le cas contraire. On peut également trouver des mono ou diglycérides avec respectivement une ou deux chaînes d'acide gras [55].

Les lipides peuvent aussi être présents sous forme de phospholipides (ou glycérophospholipides), ils représentent entre 10 et 50 % des lipides totaux, environ 20 % chez *C. vulgaris* [61]. Ce sont des constituants essentiels de la membrane cellulaire et sont formés par un squelette diglycérides, non polaire et hydrophobe, lié à un groupement phosphate, polaire et hydrophile (Figure I-6) [60]. Les phospholipides les plus présents dans les algues sont la phosphatidylcholine, le phosphatidyléthanolamine, le phosphatidylglycérol et le phosphatidylinositol [55,59,60,62].

¹ Nomenclature biochimique (C :D n-x) avec C le nombre d'atomes de carbones, D, le nombre de doubles liaisons et x la position de la première double liaison comptée depuis l'extrémité méthyle

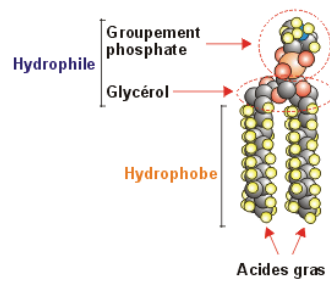


Figure I-6 : Structure d'un phospholipide

Les glycolipides sont également très présents chez les micro-algues, ils se trouvent principalement dans la membrane photosynthétique. Il existe trois structures de glycolipides : les monogalactosyldiacylglycérols, (MGDG), les digalactosyldiacylglycérols (DGDG) et les sulfolipides comme les sulfoquinovosyldiacylglycérols (SQDG), tout comme les phospholipides, ils sont composés d'acides gras, principalement l'acide alpha-linoléique et l'acide palmitique. Des trigalactosylglycérols ont également été retrouvés dans *Chlorella* [55,60].

Les bêtaïnes ont également été retrouvés dans les micro-algues , trois types ont été identifiés, le 1,2-diacylglycéryl-3-O-4'-(N,N,N-triméthyl)-homosérine (DGTS), le 1,2-diacylglycéryl-3-O-2'-(hydroxyméthyl)-(N,N,N-triméthyl)-bêta-alanine (DGTA) et le 1,2-diacylglycéryl-3-O-carboxy-(hydroxyméthyl)-choline (DGCC) (Figure I-7) [60]. Les micro-algues contiennent également des sphingolipides, des cécides, des terpènes sous forme de pigments et des triterpénoïdes aussi appelés stérols ou phytostérols tels que le cholestérol ou le cycloarténol [48,59,62,63]. Des études montrent notamment la présence de phytostérols à 28 ou 29 carbones comme l'ergostérol ou le brassicastérol chez le genre *Chlorella* [64–66].

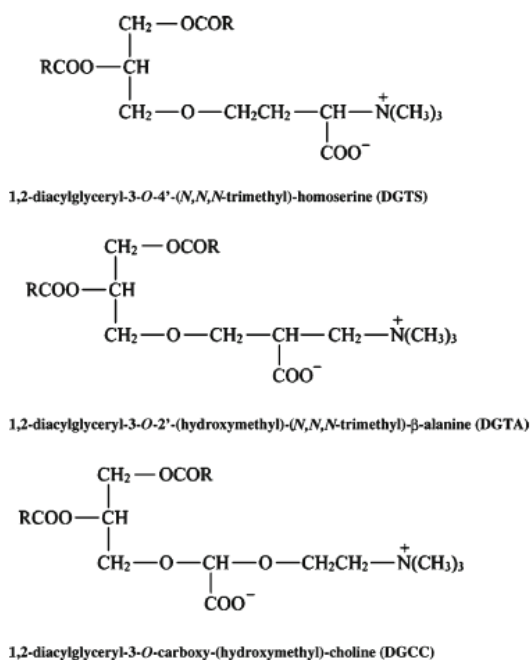


Figure I-7 : Formules développées des principales bêtaines retrouvées dans les micro-algues [60]

2.3. Les carbohydrates

Les carbohydrates, glucides ou plus couramment sucres, représentent entre 30 et 60 % du contenu cellulaire. Ils sont essentiellement composés de carbone, hydrogène et oxygène sous la forme $(\text{CHOH})_n$ avec n supérieur ou égal à 3. Parmi les glucides, on trouve les monosaccharides, les oligosaccharides et les polysaccharides. Les polysaccharides sont des polymères d'unités de monosaccharides, on trouve l'amidon avec un rôle énergétique et la cellulose, les hémicelluloses et pectines avec un rôle structural, situés principalement dans la matrice constituant les parois cellulaires [48,55]. Dans les micro-algues, la cellulose est sous forme de fibrilles de quelques microns de longueur [47]. Elle peut représenter entre 1 et 20 % de l'algue selon l'espèce et dans le cas de *C. vulgaris* environ 70 – 80 % des polymères présents dans la paroi cellulaire [67]. L'amidon et la cellulose sont uniquement constitués de glucose (6 carbones) et sont les polysaccharides les plus abondants [57], ils diffèrent par la nature de leur liaison entre les unités de glucose, α_{1-4} et β_{1-4} respectivement [55]. Les hémicelluloses, présentes en moindre quantité, peuvent être constituées d'unités de sucres à 5 ou 6 carbones tel que le glucose, le ribose, le xylose, le rhamnose, le fucose, l'arabinose, le mannose et le galactose [49,54]. On trouve également des pectines, composées d'acide galacturonique. Le type de pectines le plus couramment présent dans les micro-algues est l'homogalacturonane [48]. La paroi cellulaire est aussi constituée de glycoconjugués (unités

de sucres reliées à une chaîne lipidique ou protéique) comme les glycoprotéines riches en hydroxyproline [48].

2.4. Autres composés

D'autres composés présents en moindre quantité mais important vis-à-vis de leur composition en azote sont retrouvés dans les micro-algues.

Les acides nucléiques qui peuvent être sous forme d'ADN ou d'ARN, représentent environ 3 à 6 % de la composition de l'algue. Ils sont composés d'un assemblage de monomère appelés nucléotides reliés par des liaisons phosphodiesteres et composés d'une base azoté (variable) lié à un sucre à 5 carbone et à une unité phosphate (Figure I-8) [55]. Leur stabilité a été étudiée à 250 °C, l'ADN est hydrolysé dans un premier temps puis une décomposition des nucléotides a lieu. La liaison N-glycosyl de l'adénine est la plus fragile elle est donc facilement détruite [49].

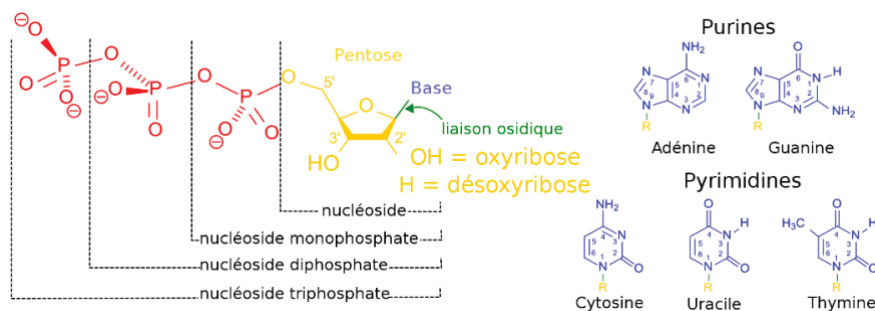


Figure I-8 : Structure chimique d'un nucléotide (monomère d'acide nucléique) [68]

Les micro-algues sont également composées de pigments nécessaires à la photosynthèse. Ils permettent de capter la lumière à une longueur d'onde bien spécifique et de fournir l'énergie nécessaire à la vie cellulaire [48]. Ils sont divisés en trois catégories : les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines [49]. La chlorophylle *a* est retrouvée dans tous les organismes photosynthétiques contrairement aux chlorophylles *b*, *c* et *d*, présentes seulement dans certaines espèces. Les chlorophylles sont composées d'un métal (Mg^{2+}) stabilisé par un cycle tétrapyrrole et différent par leur chaîne latérale comme représenté en Figure I-9. La chlorophylle *a* et *b* a été détectée dans *Chlorella sorokiniana* [69,70].

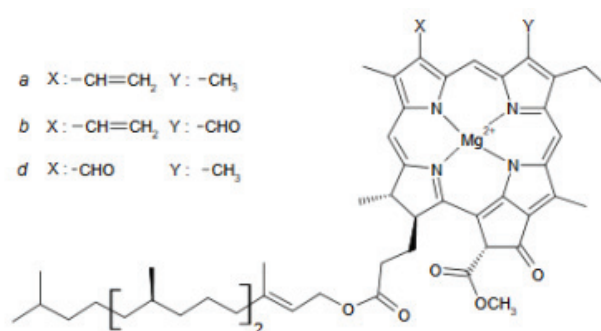


Figure I-9 : Structure chimique de la chlorophylle [71]

Les caroténoïdes, comme le β,β -carotène, sont synthétisés par toutes les algues et sont composés de 40 atomes de carbones. Le squelette de base est composé d'une longue chaîne carbonée insaturée et ramifiée par un groupement méthyle tous les 5 carbones [48].

Les phycobiliprotéines incluent la phycocyanine, la phycoérythrine, la phycoérythrocyanine et l'allophycocyanine. Ces pigments, essentiellement retrouvés dans les algues rouges et les cyanobactéries (donc non présents dans les Chlorelles) sont composés de protéines et de chromophores, appelés phycobilines qui définissent le type de phycobiliprotéine. Par exemple, la phycocyanine et la phycoérythrine, ont tous deux une structure hexamérique avec des unités phycocyanobiline et phycoérythrobyline, respectivement. Contrairement aux chlorophylles, les phycobilines sont des tétrapyrroles non cycliques comme représenté en Figure I-10 [69,72].

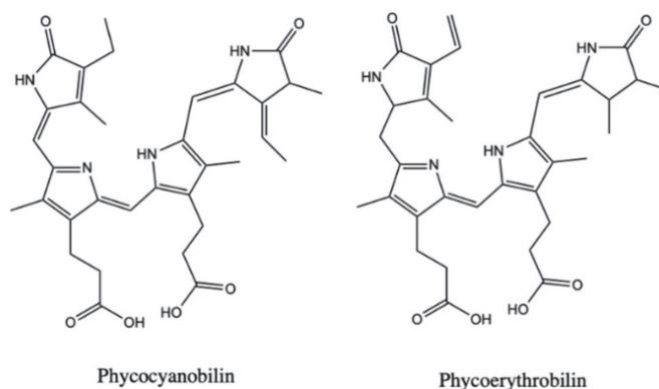


Figure I-10 : Structure de la phycocyanobiline et de la phycoérythrobyline [72]

2.5. Les composés inorganiques

Les micro-algues sont également riches en composés inorganiques, les composés suivants peuvent être retrouvés : P, K, Mg, Ca, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Na, Co, V, Si, Cr, Cd, Cl, B [53,73,74], sachant que les micronutriments essentiels à toutes les micro-algues sont le

fer, le manganèse, le cuivre, le zinc, le nickel, le potassium, le calcium et le silicium [48]. Ils sont essentiellement apportés par le milieu de culture et représentent dans les micro-algues environ 2 à 5 % de la composition [48].

La biomasse algale est alors confrontée à des conditions bien spécifiques lors de la réaction de liquéfaction hydrothermale, notamment par les propriétés de l'eau sous-critique imposées par les conditions de pression et de température. Ce point sera abordé dans la partie suivante, tout comme l'effet des paramètres sur les produits obtenus et le développement de cette technologie à grande échelle.

3. Le procédé de liquéfaction hydrothermale

Parmi les procédés utilisés pour produire des biocarburants de 3^{ème} génération et plus précisément une bio-huile (avant raffinage), on trouve le procédé thermochimique de liquéfaction. La production de bio-huile à partir de biomasse est survenue dans les années 1920 grâce aux données expérimentales de Berl, il évoque notamment une réaction dans l'eau à haute température et en présence d'un catalyseur alcalin. Ses recherches ont été poursuivies par Heinemann dans les années 1950. Cependant, le développement à échelle semi-industrielle n'est apparu qu'à partir des années 1970 aux USA et aux Pays-Bas à la suite du premier choc pétrolier de 1974, ils nomment ce procédé « Liquéfaction directe de la biomasse ». Ce sont les centres de recherche BOM-PERC (Bureau of Mines Pittsburgh Energy Research center) et LBL (Lawrence Berkeley Laboratory) qui se sont intéressés en premier à la mise au point du procédé [9,54,75,76].

A cette époque, la plupart des recherches sont focalisées sur la biomasse lignocellulosique, par exemple dans l'usine de liquéfaction de biomasse en Albany. Ils obtiennent en sortie une bio-huile lourde avec un taux d'oxygène entre 12 et 14 %, ce qui est encourageant pour la suite mais de nombreux problèmes techniques sont encore présents. Shell présente ensuite le procédé HTU (Hydrothermal Upgrading) qui se base sur les mêmes paramètres que l'usine d'Albany mais qui s'affranchi de l'utilisation d'un catalyseur. Entre 1980 et 1990, les verrous technologiques et économiques se sont accentués, par conséquent des incertitudes par rapport à la rentabilité et à la qualité des produits sont ressenties. De plus, l'apparition de la pyrolyse rapide, procédé thermochimique réalisé sur biomasse sèche à environ 500°C et pression atmosphérique, suscite de plus en plus d'intérêt pour ce type de ressource [9,75].

En 2007, la R&D s'est focalisée d'avantage sur le traitement de la biomasse humide (micro-algues, boues, résidus agroalimentaires). Ce procédé qu'on appelle liquéfaction hydrothermale (HTL), est développé notamment aux USA par PNNL (Pacific Northwest National Laboratory) au stade démonstrateur. Cependant, de nombreux verrous restent encore à lever et nécessitent de la R&D. De nombreuses publications émergent afin d'optimiser les paramètres opératoires sur différents types de biomasses ou pour élaborer des modèles prédictifs ou cinétiques par rapport aux produits obtenus. On prévoit donc un passage à échelle industrielle d'ici les prochaines années [75,76].

3.1. La réaction de liquéfaction hydrothermale

La réaction de liquéfaction hydrothermale, aussi appelée HTL, se produit à une température comprise entre 250 et 350 °C et à une pression de 10 à 20 MPa (100 à 200 bar) dans l'eau, en présence d'un gaz inerte dans le cas de la réaction en réacteur fermé (généralement l'azote) [8,54,77]. Ce procédé permet de transformer la biomasse humide (jusqu'à 80 % d'eau en masse) [50] en « biocrude » ou « résidu brut », à partir duquel la bio-huile, le produit d'intérêt, est extraite. Les co-produits associés à cette réaction sont la phase solide, appelée char ou biochar, contenant des composés à haut poids moléculaire et les espèces minérales initialement présentes dans la biomasse, la phase aqueuse composée d'acides et d'amines à chaîne courte et la phase gazeuse, principalement constituée de CO₂ [8]. La répartition et la nature des différentes molécules présentes dans les produits dépend de la composition des micro-algues et des conditions opératoires [78].

Dans ce procédé, l'eau, représentant plus de 80 % du milieu réactionnel, sert de solvant mais également de réactif avec la biomasse. La température ainsi que la pression appliquée en conditions sous-critiques garde l'eau sous son état liquide [25,46,49]. La montée en température produit des mouvements moléculaires et affaiblit le réseau de liaisons hydrogènes, ce qui agit directement sur la constante diélectrique ou permittivité relative de l'eau (diminution de 78,49 à température ambiante à 14,07 à 350 °C) qui devient alors similaire à celle des solvants apolaires, par exemple à 300 °C, l'eau a un comportement similaire à l'acétone. Cette propriété permet de mettre en contact l'eau avec des molécules organiques apolaires. La densité et la viscosité sont également des paramètres qui varient dans ces conditions et qui favorisent ou non le contact entre les différentes molécules (Figure I-11) [8,46,79,80].

On observe également des variations au niveau du produit ionique de l'eau, celui-ci atteint $10^{-11,2}$ à 300 °C et 25 MPa contre 10^{-14} à température ambiante et pression atmosphérique, on a donc une augmentation de la concentration en ions H₃O⁺. Cela favorise

les réactions acido-catalysées comme l'hydrolyse des liaisons esters pour les triglycérides, peptides pour les protéines et des liaisons éther des carbohydrates. L'eau joue donc un rôle important dans la première dégradation des molécules en conditions d'HTL [8,79,81].

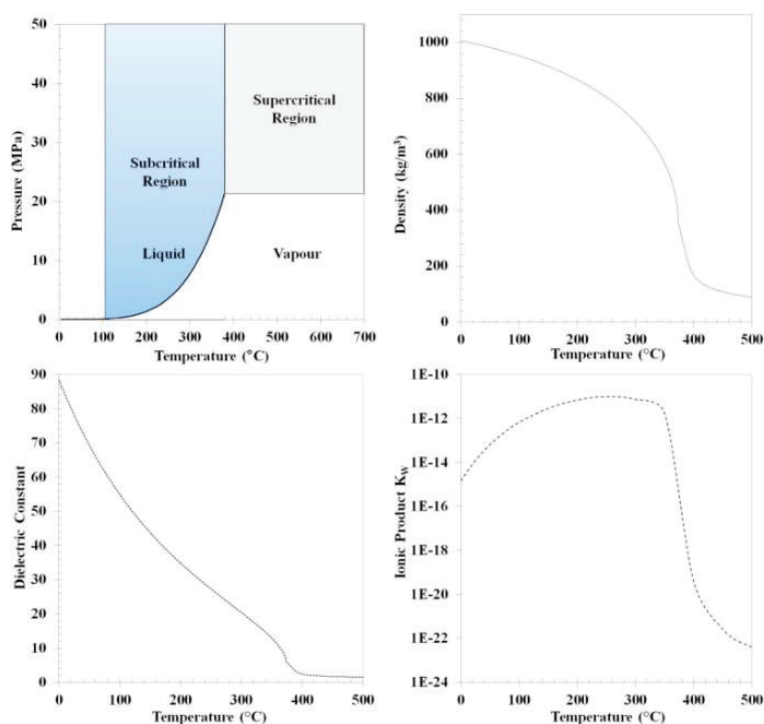


Figure I-11 : Évolution des paramètres de l'eau (densité, constante diélectrique et produit ionique) en fonction de la température à 25 MPa [46]

Le Tableau I-1 regroupe la composition, les conditions opératoires et le rendement massique et taux d'azote des bio-huiles obtenues après liquéfaction hydrothermale des espèces de genre *Chlorella* dans les conditions optimales pour différentes études. Les bio-huiles ont été extraites à l'aide du dichlorométhane, toluène ou acétone et les rendements sont exprimés par rapport à la matière sèche de la biomasse.

Tableau I-1 : Exemples d'HTL effectuée sur le genre *Chlorella* dans la littérature (rendement et taux d'azote dans la bio-huile)

Espèce	Lipides (%)	Protéines (%)	Carbohydrates (%)	Température (°C)	Temps de séjour (min)	Proportion biomasse/eau (%)	Rendement massique en bio-huile (%MS)	Taux d'azote (%)	Ref.
<i>C. sorokiniana</i>	20	14,7	24,8	350	10	12	39,4	-	[82]
<i>C. sorokiniana</i>	9,4	43	17	300	30	12	38,2	-	[82]
<i>C. sp.</i>	26	57	3,8	350	60	10	36	5,9	[83]
<i>C. vulgaris</i>	23	50,6	3,8	300	60	9,8	46,6	5,3	[84]
<i>C. vulgaris</i>	20,4	41,2	6,44	375	5	6	55,3	7,1	[85]
<i>C. sp.</i>	11,4	76,9	2,4	350	30	20	37,9	6,5	[86]
<i>C. pyrenoidosa</i>	21,1	57,8	4,4	350	60	36,9	43,8	-	[87]
<i>C. protothecoides</i>	53	11	11,6	350	20	15	48	-	[88]
<i>C. sp.</i>	0,9	63,2	9,5	320	10	10	39,3	-	[89]
<i>C. sp.</i>	10,7	44,6	17,2	300	30	10	32,6	-	[90]

<i>C. sp.</i>	59,9	9,3	13,2	220	90	25	83,8	0,3	[91]
<i>C. vulgaris</i>	6,5	65,5	9,6	300	20	9	41,2	-	[92]
<i>C. sp.</i>	36,6	22,2	14,4	300	30	5	50,6	-	[93]
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,1	71	22	280	60	35	43,3	-	[94]
<i>C. sp.</i>	13,1	8,5	29,4	260	60	25	49	0,47	[95]

On observe dans les données du Tableau I-1 que le rendement en bio-huile est très dépendant de la composition des micro-algues et des conditions appliquées, il varie entre 32 % et 84 % et le taux d'azote entre 0,3 et 7,1 % selon la composition de la biomasse et notamment le taux de protéines.

L'HTL présente de nombreux avantages par rapport à d'autres procédés thermochimiques produisant de la bio-huile comme la pyrolyse, notamment d'un point de vue des dépenses énergétique [96]. Celles liées à l'étape de séchage sont évitées en traitant la biomasse humide directement [9]. Changi et al. (2015) affirment que l'enthalpie nécessaire au chauffage de l'eau de 25 °C à 300 °C est égale à environ 1240 kJ/kg ce qui est deux fois moins élevée que l'enthalpie nécessaire au séchage de la biomasse (environ 2520 kJ/kg H₂O). La récupération de chaleur au cours de la réaction et l'optimisation des paramètres (température, temps de séjour et taux de matière organique) sont également possibles afin de diminuer la consommation énergétique [49].

3.2. Effets des différents paramètres

La réaction de liquéfaction hydrothermale peut être orientée de manière à favoriser certaines réactions. Les conditions opératoires telles que la température, la proportion biomasse/eau et le temps de séjour peuvent être ajustés selon la biomasse utilisée. L'ajout de catalyseur peut également être envisagé.

3.2.1. Effet de la température

La température impose l'énergie d'activation disponible pour les différentes réactions de dégradation, ce paramètre va donc influencer le schéma réactionnel et la cinétique associée. De manière générale :

- Entre 0 et 100 °C, on observe simplement une hydrolyse des macromolécules en sous unités : acides-aminés, acides gras ou unités de glucose [8,97,98]
- Entre 100 et 200 °C, des réactions de décarboxylation ou de désamination apparaissent [8,98]

- Au-dessus de 200 °C, les acides gras peuvent se transformer en ester d'acides gras ou encore en amides et la quantité en alcène diminue [8,99]
- Au-dessus de 270 °C, on passe en conditions de liquéfaction hydrothermale, les produits deviennent totalement solubles à l'eau, ce qui génère de nouvelles interactions entre les molécules et favorise la production de bio-huile [8,45]
- Au-dessus de 350 °C, on observe des réactions radicalaires qui mène à la production de polymères retrouvés dans le char et de petites molécules dans le gaz et la phase aqueuse, cependant les conditions de liquéfaction hydrothermales commencent à être dépassées [8,97,99]

La présence d'une rampe de température avant la réaction de liquéfaction (entre 20 et 270 °C) en condition batch implique de nombreuses réactions secondaires. Au début de la montée en température, des réactions peuvent avoir lieu entre les unités d'acides aminés, les acides gras et les unités de glucose non dégradées par hydrolyse, décarboxylation ou désamination. Par la suite, les réactions de désamination ont lieu et augmentent la quantité de molécules inorganiques azotés (ammonium) en phase aqueuse [90,97,99,100]. Cela favorise alors les réactions intermoléculaires comme les réactions de Maillard ou la formation d'amides. Ces réactions seront détaillées dans la partie 4.5. Dans certains cas, il est intéressant d'effectuer un pré-traitement à faible température avant la réaction de liquéfaction hydrothermale, la phase aqueuse chargée en molécules azotées est alors retirée avant de placer à nouveau le mélange (avec une nouvelle phase aqueuse) dans les conditions de liquéfaction hydrothermale. Cela permet de diminuer la proportion en azote et en composés inorganiques dans la bio-huile [50,101], mais diminue également le rendement [102].

La liquéfaction hydrothermale se déroule ensuite à un palier de température fixé entre 270 et 350 °C où la majorité de l'azote initialement présent dans la biomasse est converti en hétérocycles azotés dans la bio-huile [97]. Dans ces conditions, le rendement en bio-huile est fortement influencé par la température choisie [103]. De nombreuses études atteignent un rendement en bio-huile intéressant aux alentours de 300 °C et à ~320 °C les réactions de polymérisation et de décarboxylation deviennent majoritaires et favorisent la production de char et de gaz sous forme de CO₂ [90,99,100,104].

La pression est un paramètre moins sensible pour la conversion. Elle est ajustée afin de garantir le maintien de l'eau sous forme liquide. Son augmentation, directement liée à la température (dans le cas du batch), mène à une augmentation de la densité de l'eau et de la quantité en ion H⁺ présent dans le milieu, ce qui favorise les réactions d'hydrolyse. Cependant, une forte pression favorise des « effets de cage » ou de « limitation de diffusion » et empêche

la dégradation de certaines molécules [8]. Une augmentation de pression provoque également une diminution de la production de gaz selon la Loi de Le Châtelier [87,105].

3.2.2. Effet du temps de séjour

Le temps de séjour habituellement choisit pour la réaction de liquéfaction hydrothermale est entre 5 et 60 min. Ce paramètre influence également le rendement, notamment aux faibles températures (~280 °C) [99]. Un temps de séjour long favorise généralement la formation de char car les molécules susceptibles de se condenser ou de polymériser se sont formées en amont, ces conditions sont donc appliquées dans le cas de la carbonisation hydrothermale réalisée à basse température. On observe aussi la formation de gaz au cours du temps due aux réactions de décarboxylation [53,99,105]. A haute température, l'HTL rapide (entre 1 et 5 min) permet de favoriser les premières réactions d'hydrolyse et d'éviter la formation de molécules lourdes qui diminuent le rendement en bio-huile [45,106].

3.2.3. Effet de la proportion biomasse/eau

La proportion biomasse/eau joue également un rôle important dans l'efficacité du procédé. Un pourcentage compris entre 10 et 20 % est généralement choisi. Comme évoqué précédemment, l'eau est aussi un réactif, il faut donc garantir l'accès de la biomasse à l'eau. S'il est trop élevé la surface de contact entre l'eau et la biomasse sera réduite, ce qui diminuera le rendement. De même, une concentration trop faible entrainera une consommation en eau trop importante et un faible rendement dû à la faible quantité de biomasse transformée dans le réacteur [53,79].

3.2.4. Effet de l'ajout de catalyseurs

Des catalyseurs peuvent être utilisés afin d'augmenter le rendement en bio-huile et de réduire la quantité en hétéroatomes [35,50]. On trouve des catalyseurs homogènes (solubles dans l'eau) et hétérogènes [8,25].

Les catalyseurs homogènes les plus classiques sont les hydroxydes alcalins (KOH, NaOH...), les carbonates (Na_2CO_3) ou bicarbonates qui augmentent le pH du milieu réactionnel et la dissolution des molécules en phase aqueuse. Par conséquent, les réactions de décarboxylation, déshydratation ou désoxygénation sont favorisées et la quantité d'oxygène est donc diminuée dans les bio-huiles [50]. Ils sont également utilisés pour stabiliser les intermédiaires de réaction (en produisant de l'hydrogène) et éviter les réactions secondaires de condensation, réduisant ainsi la production de char [46]. L'acide formique est

également utilisé et selon Obeid et al. [50], il se décompose en H₂ et CO dans les conditions d'HTL, ce qui favorise la réaction *water-gas shift* (réaction entre le monoxyde de carbone et l'eau pour former du dioxyde carbone et de l'hydrogène) et produit de l'hydrogène pouvant agir en tant qu'agent réducteur [50]. Cependant, on peut également supposer que l'acidité du milieu a un effet sur la réactivité.

Les catalyseurs hétérogènes tels que le Pd, Pt ou Ru supporté par C, Ni, Pt, Ni/SO₂ eux-mêmes supportés par Al₂O₃, ont l'avantage de supporter des conditions plus extrêmes que les catalyseurs homogènes et de pouvoir être réutilisés [8,79,107].

Finalement, en prenant en compte la température, la pression, le temps de séjour, la proportion eau/biomasse et la présence de catalyseurs on peut arriver à orienter la réaction de liquéfaction de manière à avoir un bon rendement en bio-huile et un faible taux d'hétéroatomes. L'effet de ces paramètres est visible dans la plupart des cas, cependant il faut garder en tête la complexité et la variabilité de la composition de la biomasse initiale selon l'espèce et les conditions de culture considérées. Ce sont donc des paramètres à adapter à chaque type de biomasse et à l'objectif voulu en terme de produits.

La plupart des études citées jusqu'à maintenant considèrent des essais en réacteur batch. Or, le développement du procédé de liquéfaction hydrothermale à échelle industrielle nécessite le passage en continu. Les effets cités ci-dessus seront similaires en continu mis à part pour la rampe de température, non présente. Cependant, celui-ci fait encore face à des verrous technologiques, présentés ci-dessous.

3.3. Développement du procédé continu

On peut diviser le procédé de liquéfaction hydrothermale en continu en 3 étapes : alimentation, réaction et séparation des phases. Trois installations existantes vont être détaillées dans la partie suivante et prises comme référence : l'installation de PNNL (1,5L/h) [108], de Sydney (15-90 L/h) [109] et de New Mexico (15 L/h) [35].

Trois systèmes d'injection ont été ciblés sur les installations de liquéfaction hydrothermale en continu :

- Système de piston avec séparation de l'eau et de la biomasse (PNNL) puis mélange et injection à l'aide d'une pompe seringue [108]
- Deux pompes en séries injectant un mélange eau/biomasse (Université de Sydney) [109]

- Une pompe injectant un mélange eau/biomasse + filtration grosses particules inorganiques (Université New Mexico) [35]

Les principales difficultés à cette étape sont au niveau du pompage de la biomasse [35]. Certains types de biomasses vont exiger un broyage avant d'être pompées et insérées dans le réacteur. Le pompage des ressources comme les eaux usées ou les macro-algues pose des problèmes par l'accumulation et l'agrégation des particules. Cependant, pour les micro-algues, ce problème est moins présent car la taille des particules est petite, la possibilité de pompage a donc été démontrée à grande échelle [54,109].

Parmi les différentes technologies, le système de pompe seringue permettrait d'injecter une biomasse de 1,5 % à 5 % à un flux de 8 L/h. On peut également envisager des pompes à double piston ou avec un tuyau-diaphragme au lieu des pompes classiques à membranes ou à piston. Un additif biodégradable comme la gomme de guar ou de xanthan peut également être ajouté afin de mettre en suspension les particules et d'assurer une meilleure homogénéisation de la solution [35].

Après avoir préchauffé (à 170 °C pour Sydney et à 133 °C pour New Mexico et PNNL) le mélange, il est inséré dans un réacteur agité, les différents types de réacteurs utilisés sont cités ci-dessous.

- Réacteur agité avec chauffage électrique (PNNL) [109]
- Circulation du mélange dans des tubes placés dans un lit fluidisé chauffé (Université de Sydney) [109]
- Réacteur à écoulement piston avec 3 chauffages céramique (CHME, New Mexico State University) [35]

La géométrie du réacteur a une influence sur l'homogénéité du mélange et donc la réactivité. Le choix des matériaux est aussi à prendre en compte pour assurer la durabilité des installations. En particulier les réacteurs conçus en acier inoxydable austénitique qui sont sensibles à la fissuration par corrosion à cause des ions chlorures présents dans les algues [110].

La bio-huile et les phases solides et aqueuses sont ensuite séparées de deux manières différentes :

- Séparation de la bio-huile et des phases solides et aqueuse par solvant (Université de Sydney)[109]
- Filtration à chaud de la phase solide puis séparation de la phase aqueuse et de la bio-huile par décantation (PNNL & CHME, New Mexico State University) [35,108]

PNNL propose une solution intéressante avec le filtre en amont de la séparation liquide-liquide [35]. Ils ont déposé un brevet en 2016 permettant de séparer en amont la phase solide de la bio-huile par décantation et filtration [111]. Une méthode de filtration à haute pression et haute température (17,3 MPa et 220 °C) en amont du refroidissement a également été proposée. Par des jeux de filtration sous pression, le solide est récupéré au fur et à mesure de l'essai (Figure I-12) [35].

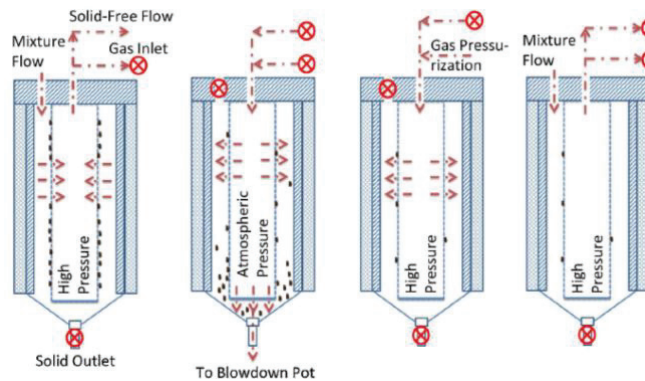


Figure I-12 : Schéma de fonctionnement de la filtration haute pression et haute température [35]

Ci-dessous, le schéma de l'installation complète de liquéfaction hydrothermale de PNNL, intégrant la filtration à chaud (Figure I-13).

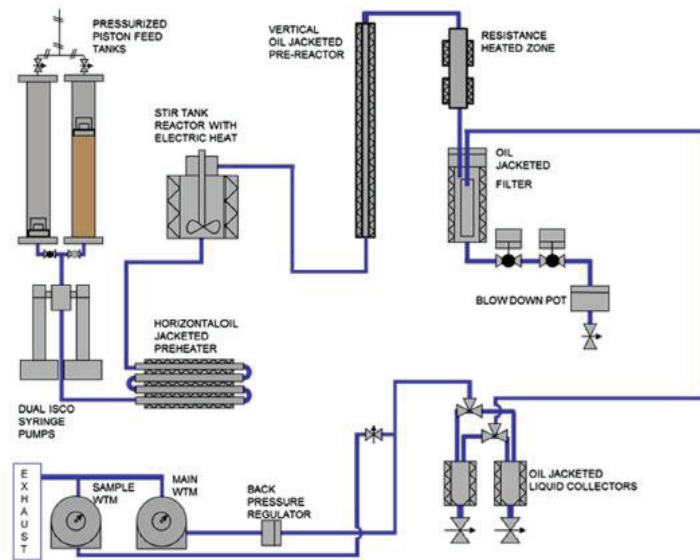


Figure I-13: Schéma de l'installation pilote d'HTL de PNNL [108]

Des tests de liquéfaction hydrothermale en continu avec un débit entre 15 et 30 L/h ont été effectués sur les genres *Chlorella* et *Spirulina* par l'université de Sydney et de Leeds, ils ont pu atteindre un rendement en biocrude de 42 % avec une concentration entre 1 et 10% en matière sèche, une température de 370 °C et un temps de séjour de 3 min [109]. La NAABB

(National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts) formée en 2009 a également monté un projet sur la production de biofuel à partir de micro-algues. Les trois acteurs de ce projet étaient PNNL, pour la liquéfaction hydrothermale, Genifuel pour les équipements du procédé et Reliance, pour l'approvisionnement en micro-algues. Le but était de démontrer la faisabilité du projet à échelle pilote, la taille fixée traiterait 1,5 t/j en considérant que le mélange d'algues est inséré à un taux de 20 % de matière sèche. Finalement, le test à échelle pilote est encourageant car la bio-huile obtenue à échelle laboratoire à PNNL est très similaire en terme de rendement et de qualité à celle produite après le passage à échelle pilote. Une augmentation du flux de production a donc été envisagé afin de réduire d'avantages les coûts du biocarburant en sortie [112].

Finalement, l'augmentation du rendement et l'amélioration de la qualité de la bio-huile passera par le développement du procédé en continu, mais avant tout par la compréhension de la réactivité et de la cinétique des réactions dans ces conditions [8,33]. La partie suivante aborde plus en détails le lien entre la biomasse et les produits obtenus en sortie d'HTL.

4. Lien entre la biomasse et les produits issus de la liquéfaction hydrothermale

La composition de la biomasse joue un rôle important dans la composition des produits obtenus. La plupart des études sur la liquéfaction hydrothermale de micro-algues prennent en compte la composition globale en lipides, carbohydrates et protéines. Cependant, la diversité des molécules au sein de ces différentes familles implique de considérer la réactivité de manière détaillée.

En conditions sous-critiques, la biomasse est décomposée en sous-unités par hydrolyse thermique ou chimique. Des réactions de déshydratation, déshydrogénation, désoxygénation, décarboxylation ou désamination se produisent ensuite pour former des molécules réactives pouvant se cycliser, polymériser ou encore réagir entre elles [54]. Cependant les mécanismes réactionnels varient en fonction de la nature des molécules. La réactivité des protéines, lipides et carbohydrates va donc être décrite individuellement puis en mélanges [8].

4.1. Réactivité des protéines

La dégradation des protéines se fait en deux étapes. On observe tout d'abord une étape d'hydrolyse des peptides ou polypeptides en acides aminés. Sheehan et Savage (2017) précisent que les polypeptides sont dégradés au-dessus de 300 °C après 5 min de réaction [113]. Cela a également été constaté par Zhu et al. (2008) [114].

Par la suite, les acides aminés sont décomposés pour former des composés gazeux (CO₂, CO, H₂, CH₄), des alcanes, des alcènes, des alcools, des amides, des aldéhydes et des acides carboxyliques [49,115]. Ils sont dégradés selon leur structure et propriétés chimiques. Comme expliqué en partie 2.1, ils ont tous une fonction acide et basique [55], l'acidité du milieu va donc influencer la réactivité [116]. Dans notre cas, le pH initial de la solution d'algues se situe entre 6 et 8, les acides aminés sont donc sous une forme amphotérique (neutre) qui ne favorise ni le caractère acide, ni basique.

La principale voie de dégradation des acides aminés est la décarboxylation (Figure I-14) pour former des amines qui peuvent ensuite réagir ensemble pour former des diamines [46,49,54,113]. Mais ils peuvent également perdre la fonction amine et former une double liaison [46,49,54]. Celle-ci est alors disponible pour former des alcools qui peuvent être dégradé par rupture d'une liaison carbone-carbone en CO₂ et aldéhydes ou cétones. La double liaison peut également être hydrogénée pour former des acides carboxyliques saturés.

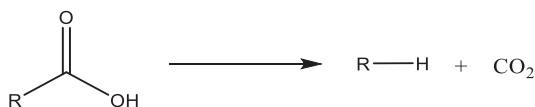


Figure I-14 : Décarboxylation induite à haute température

Le groupement amine ou carboxylique non dégradé en première étape est ensuite éliminé. Cela mène à la formation d'alcènes qui peuvent être hydrogénés pour former des alcanes, hydratés pour former des alcools ou encore polymériser.

Selon le groupement R lié à l'acide aminé, on peut aussi observer des réactions intramoléculaires de cyclisation ou de condensation pour former des succinimides, du caprolactame ou des dicétopipérazines [113,117,118]. Ce point sera abordé dans le Chapitre IV portant sur le schéma réactionnel de dégradation des acides aminés pour *C. sorokiniana*.

4.2. Réactivité des lipides

Les triglycérides, phospholipides et glycolipides suivent les mêmes étapes de dégradation pendant l'HTL. L'hydrolyse est la réaction principale menant à la formation d'acides gras et de glycérol dans le cas des triglycérides et de chaînes phosphatées dans le cas des phospholipides [49,119]. Les triglycérides sont dégradés à 97 % à une température supérieure à 280 °C et pendant les 20 premières minutes [46,49]. Les successions d'hydrolyses représentées en Figure I-15 sont quasi-irréversibles et la première dégradation est la plus énergétique, ce qui explique la dégradation quasi-systématique jusqu'au glycérol [49,54]. Ce dernier est ensuite déshydraté pour former l'acroléine, l'acétaldéhyde, le formaldéhyde, le méthanol, le propionaldéhyde, l'alcool allylique et l'éthanol [120–122].

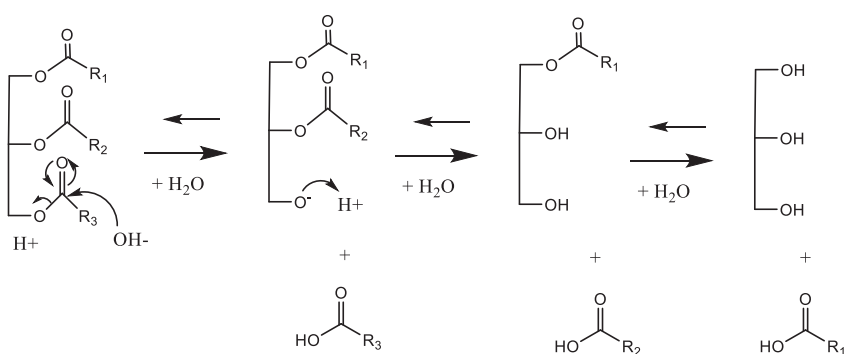


Figure I-15 : Hydrolyse des triglycérides

Les chaînes d'acides gras sont dégradées en petites molécules comme des alcools, alcanes, alcènes ou en composés polyaromatiques [46,123,124]. Les alcènes provenant de la décarboxylation des acides gras insaturés et les alcanes de l'hydrogénation des alcènes ou de la décarboxylation des acides gras saturés [125]. Cependant, Fan et al. (2020) [126] a observé que l'acide palmitique était stable en dessous de 350 °C, il est donc possible de récupérer des acides gras non dégradés.

4.3. Réactivité des carbohydrates

Les carbohydrates (cellulose, hémicellulose et amidon) sont également hydrolysés en conditions d'HTL. Pour la cellulose et l'amidon on observe la formation d'oligomères et de glucose (Figure I-16) alors que les hémicelluloses mèneront à la formation d'autres unités de sucres telles que le xylose [46,127]. L'hémicellulose, par son caractère amorphe, peut se dissoudre complètement au-dessus de 180 °C et commencer à se dégrader à des

températures inférieures à 120 °C alors que les liaisons glycosidiques de la cellulose seront rompues à des températures de 200 à 250 °C en milieu acide [93,105,127]. La dégradation de l'amidon est aussi plus rapide que celle de la cellulose [49]. On aura donc dans un premier temps une dégradation de l'amidon et de l'hémicellulose puis dans un deuxième temps l'hydrolyse de la cellulose.

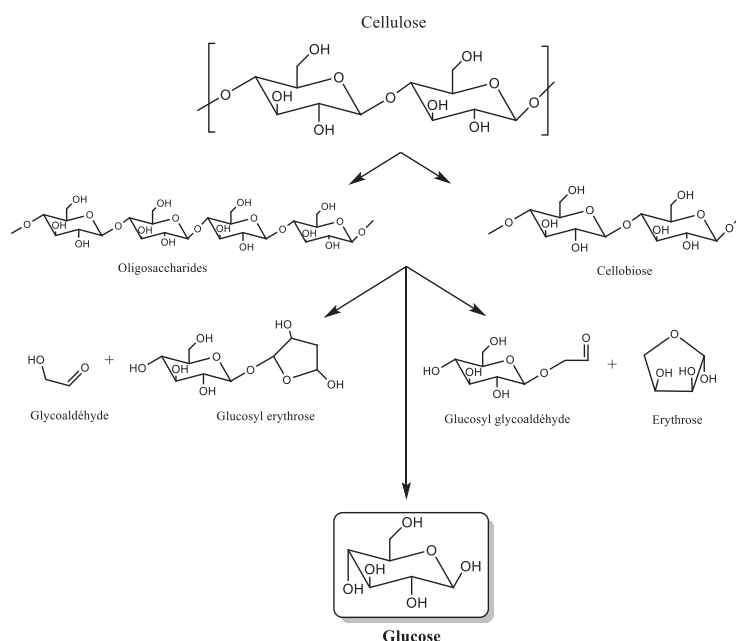


Figure I-16 : Dégradation de la cellulose en glucose en conditions d'HTL

Le glucose est ensuite transformé en molécules cycliques oxygénées ou en petits acides, le schéma de dégradation est présenté en Figure I-17 [49,121]. Les trois principaux mécanismes de conversion des monosaccharides sont les suivants : rupture liaison C-C par rétro-aldolisation, déshydratation acido-catalysée formant les composés furaniques et isomérisation (LBET, Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein). La majorité des composés formés sont des cétones cycliques, des phénols et d'autres molécules oxygénées comme le 5-HMF (5-hydroxyméthylfurfural), le 2,5-dioxo-6-hydroxyhexanal (DHH), le 1,2,4-benzène-triol, le furfural ou des acides, comme l'acide lactique [49,118,128]. Cependant, la réactivité dépend de la concentration en glucose dans le milieu et du pH de la solution. Par exemple, l'isomérisation du glucose en fructose est favorisée en conditions légèrement acides [49] et la production d'acides organiques et de molécules polaires en conditions basiques [46,105].

Des études ont également montré la formation de composés aromatiques à haut poids moléculaire, dus aux condensations, polymérisations des cétones cycliques ou autres produits de dégradation tel que le 5-HMF ou le DHH, très réactif [117,129]. Ces derniers peuvent

notamment former des humines [130,131]. Ces produits de condensation sont des précurseurs à la formation de char au détriment de la bio-huile, il s'agira donc de limiter leur formation.

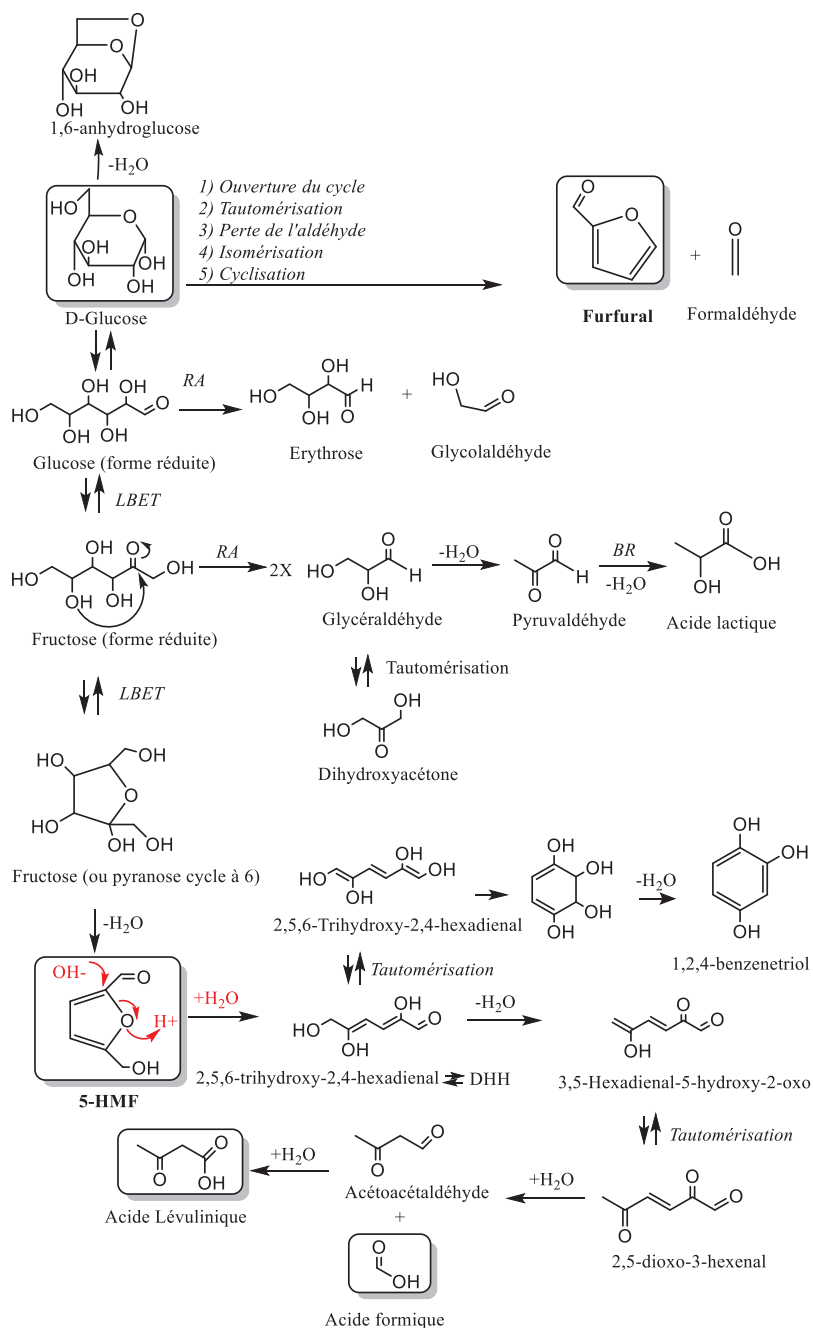


Figure I-17 : Décomposition du glucose en conditions d'HTL (avec RA : retro-aldol reaction ; BR : Benzilic acid rearrangement ; LBET : Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein transformation) [49,105]

Le D-xylose issu de l'hydrolyse de l'hémicellulose suit le même type de dégradation que le glucose, avec des réaction rétro-aldol principalement, on observera les produits suivants : furfural, D-xylulose, glycéraldéhyde, glycoaldéhyde, dihydroxyacétone, pyruvaldéhyde, acide lactique et formaldéhyde [132].

4.4. Réactivité des pigments et acides nucléiques

La réactivité de la chlorophylle en HTL a été étudiée par Changi et al. (2012) [133]. Ces auteurs ont conclu que les produits de dégradation de cette molécule sont essentiellement liés à la dégradation de la chaîne phytol. Des pristines, phytènes, néophytadiènes, phytones, phytane, isophytols, dihydrophytols et molécules à 20 carbones peuvent alors être observées.

Aucune étude dédiée à la dégradation du cycle tétrapyrrole n'a été faite pour le moment mais Jarvis et al. (2016) [134] a détecté des porphyrines dans le biocrude de *Tetraselmis sp* ce qui prouve la stabilité de la structure cyclique. Les phycobiliprotéines ayant une structure linéaire semblent plus exposées à des ruptures de liaison carbone.

La dégradation des acides nucléiques a peu été étudiée en HTL dans la littérature mais pourrait mener aux produits de dégradation des polysaccharides en vue de la présence d'une unité de sucre, mais aussi à des chaînes phosphatées ou des hétérocycles azotés tels que les pyrimidines ou purines, provenant des unités ramifiées sur le cycle.

4.5. Réactivité des mélanges

4.5.1. Interactions polysaccharides-protéines

La réaction de « Maillard », est observée entre le groupement amine des acides aminés et le groupement carbonyle issu de la dégradation des carbohydrates [49,135]. Selon Qiu et al. (2019), l'amine engagée dans la réaction de Maillard peut être directement l'acide aminé mais aussi l'amine ou l'ammoniac formé après décarboxylation ou désamination respectivement. Le groupement carbonyle réactif peut être issu d'un monosaccharide linéaire ou être intégré à un cycle issu de la dégradation du glucose [136] (Figure I-18).

Des composés d'Amadori sont formés par combinaison d'acides aminés et de glucose linéaire. Leur cyclisation est ensuite possible pour former des dérivés de pyridines ou de pyrazines [122,136,137]. Des molécules à haut poids moléculaire, nommées mélanoidines, sont aussi produites par condensation. Alimoradi et al. (2020) [97] montre que 59 % des mélanoidines sont des molécules azotées cycliques, ce qui est confirmé par de nombreuses études : [117,127,138].

Minowa et al. (2004) [139] montre que la formation de mélanoidines commence à 200 °C sous forme solide et que la bio-huile se forme seulement au-dessus de 250 °C. Une partie des molécules dans la bio-huile sont donc issues des produits de dégradation des

mélanoïdines (pyrazines, pyridines, indole) [127,136]. Qiu et al. (2019) [136] montre que l'HTL à 320 °C et 60 min du mélange leucine/glucose mène à 84,2 % de pyrazines dans la bio-huile. Cela est confirmé par Fan et al. (2020) [126] qui montrent que les pyrazines sont formées lors d'HTL du mélange lactose/lysine. Cependant la température a un fort effet sur la formation des produits de Maillard. Une augmentation de la température mène à une compétition entre la production d'amides (voir partie 4.5.2) et de produits de Maillard, les amides sont favorisés [126].

Deux autres voies de réactions de Maillard sont également possibles. L'ammoniac venant de la désamination des acides aminés peut réagir avec les cycles oxygénés pour former des pyrazines et les amines venant de la décarboxylation peuvent réagir avec les acides carboxyliques venant de la désamination pour former des pyrroles et pyrazines [136].

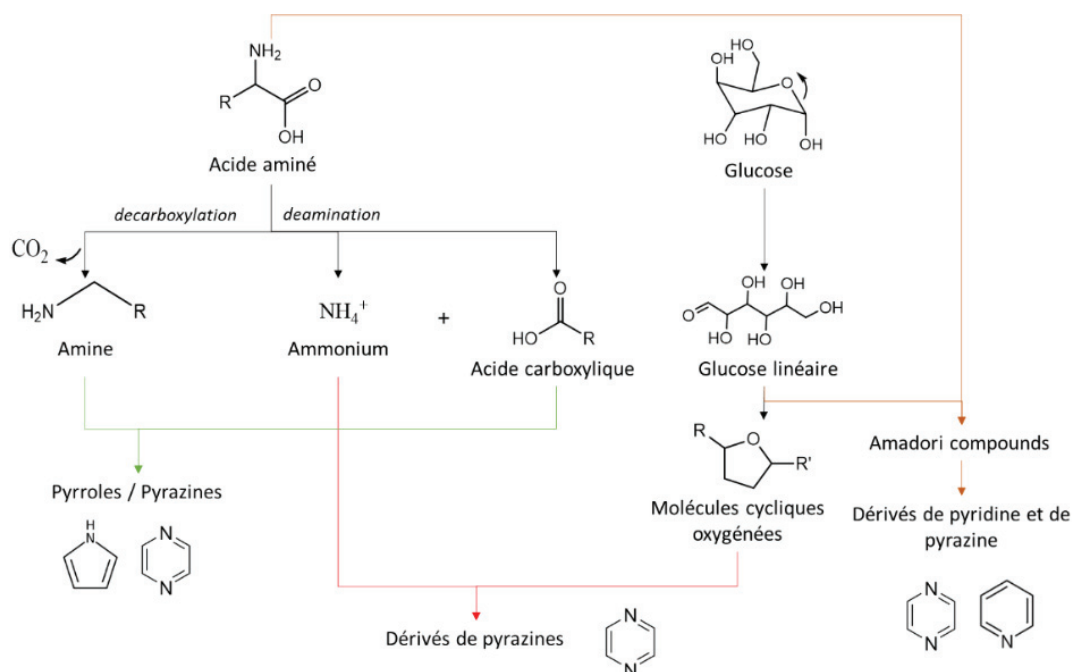


Figure I-18 : Schéma de formation des composés issus des réactions de Maillard [49]

Les humines, citées précédemment lors de la dégradation des carbohydrates, peuvent être aussi formées suite à des réactions de Maillard entre les acides aminés et les phénols, quinolones ou autre composés issus de la dégradation des carbohydrates [131].

4.5.2. Interactions protéines-lipides

L'interaction entre protéines et lipides a aussi souvent été étudiée dans la littérature. Yang et al. (2018) [118] ont montré la production d'amides et d'esters venant de cette interaction. Les acides gras et les acides aminés réagissent ensemble pour former des amides (Figure I-19) et dans un second temps, ils réagissent avec des alcools pour former des esters

(Figure I-20) [49,55]. Les alcools peuvent venir de la dégradation des acides aminés ou du glycérol [55,140].

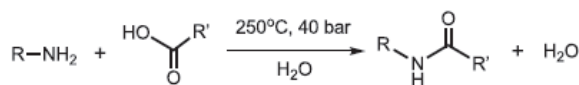


Figure I-19 : Réaction de formation d'amides à haute température [141]



Figure I-20 : Réaction d'estérification

Cependant, selon Yang et al. (2019) [138], la formation d'amides est majoritaire comparé à la formation d'esters. Matayeva et al. (2019) confirme ces résultats, les produits principaux de l'interaction entre la tripalmitine et la phénylalanine sont l'acide palmitique et le phényléthylpalmitamide [142]. De plus, les amides sont d'avantages formés à haute température [126].

Cependant, les amides ne sont pas les mêmes selon la catégorie d'acide aminé impliquée dans la réaction. Chiaberge et al. (2013) [143] a testé des mélanges des 20 acides aminés avec l'acide hexadécanoïque en conditions d'HTL. Ils ont conclu que la réaction de l'acide hexadécanoïque avec un acides aminé basique ou acide forme de l'hexadécanamide non substitué alors que les autres donnent le produit de condensation entre l'acide aminé décarboxylé et l'acide hexadécanoïque, en incluant la chaîne latérale de l'acide aminé [143]. Un exemple est donné entre l'acide oléique et la phénylalanine en Figure I-21.

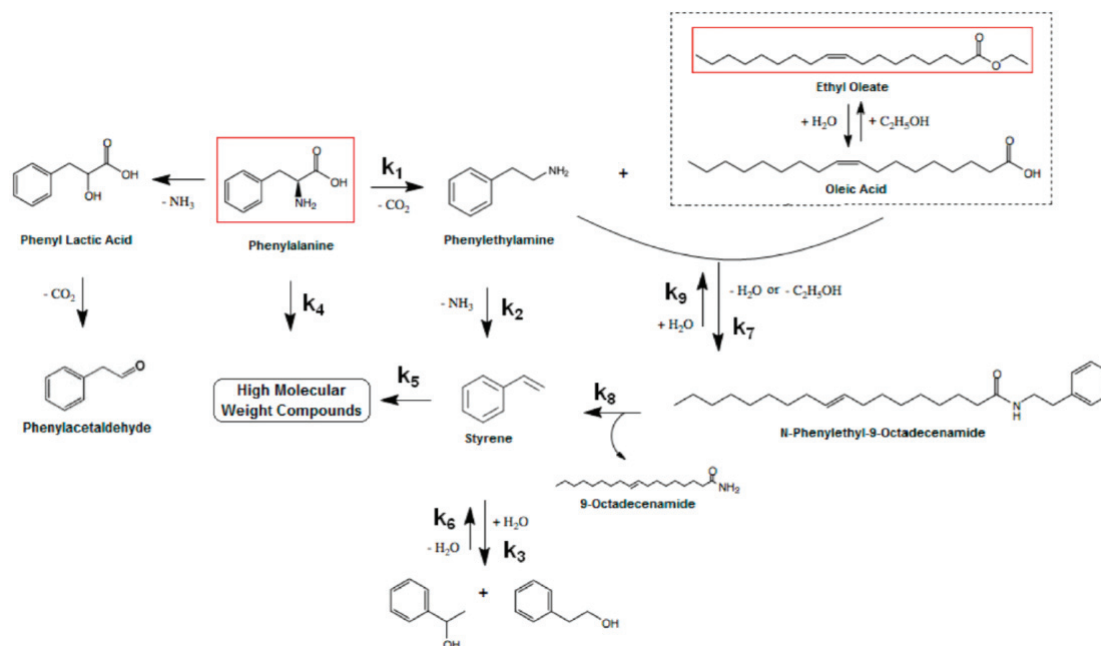


Figure I-21 : Exemple de réaction entre l'acide oléique et la phénylalanine [49]

Même si les amides et esters sont les produits principaux de cette interaction, des composés azotés cycliques sont aussi détectés. Alimoradi et al. (2020) [97] montre la formation de composés hétérocycliques par cyclisation des amides, comme les dérivés de pyrrolidine ou de quinolone, ce qui représente environ 18,1 % des composés hétérocycliques produits durant l'HTL.

Les amides peuvent aussi être le produit de la réaction entre un acide et un amine issus de la dégradation des acides aminés. Le tableau suivant regroupe tous les acides et amines issus de la décomposition de différents acides aminés, il y a plus de 400 combinaisons possibles pour former des amides. En gardant en tête qu'il y a d'autres acides aminés donc d'autres possibilités.

Tableau I-2 : Acides et amines issus de la dégradation des acides aminés pouvant mener à la formation des amides (exemple de 4 acides aminés) [49,121,124,126,136,142,144]

Acide aminé	Acides	Amines
Leucine	Acide 4-méthyl-2-pentanoïque Acide 3-hydroxy-4-méthylpentanoïque Acide 4-méthyl-2-pentanoïque	Isoamylamine Diisoamylamine
Sérine	Acide lactique Acide acrylique Acide 3-hydroxy-2-propenoïque Acide glycérique Acide 3-hydroxypropanoïque Acide propanoïque Acide 2-iminopropanoïque	Vinylamine Ethylamine Ethylène Ethane Aminoéthanol Diéthylamine Diéthanolamine Ethenamine, N-éthényl
Acide aspartique	Acide lactique Acide fumarique Acide malique Acide succinique Acide 3-hydroxypropionique	Alanine β-alanine Dipropylamine N-(2-carboxyéthyl)- β-alanine N-(1-carboxyéthyl)- alanine
Lysine	Acide 6-amino-2-hexenoïque Acide 6-amino-2-hydroxyhexanoïque Acide 6-aminohexanoïque	1,5-pentanediamine N1-(5-aminopentyl)-1,5-pentanediamine 4-pentèn-1-amine 5-amino-1-pentanol
Phénylalanine	Acide benzènepropanoïque Acide cinnamique Acide 2-hydroxy-3-phénylpropanoïque	Phényléthylamine Diphényléthylamine

Le glycérol est également un produit de dégradation des lipides. Comme expliqué dans la partie 4.2, le glycérol se dégrade entre autres en acroléine, réactive en présence d'un acide aminé. L'addition de Michael forme alors une base de Schiff pouvant subir une condensation aldol et former des dérivés de pyridines [120,122].

4.5.3. Interaction polysaccharides-lipides

Yang et al. (2018) ont étudié les effets antagonistes et synergiques entre différentes molécules modèles et montrent que l'interaction entre les lipides et la cellulose/hémicellulose a un effet positif sur le rendement en biocrude. Les acides gras réagiraient avec les produits de décomposition des polysaccharides tels que le furfural ou le glycéraldéhyde pour former du biocrude [118]. Cette interaction positive a également été montrée par l'étude de Déniel et al. [124].

On observe également que la quantité d'acides libérée par l'hydrolyse des carbohydrates favoriserait la réaction d'hydrolyse des triglycérides, en effet, cette réaction se produit plus facilement en milieu acide [118]. De plus, les alcools produits à partir de l'hydrolyse des carbohydrates favoriseraient l'estérification des acides gras. Les produits de dégradations des

carbohydrates semblent donc à la fois catalyser la réaction d'hydrolyse mais aussi le rendement en ester d'acides gras donc en bio-huile de bonne qualité [118,145].

4.6. Influence des composés inorganiques sur la réactivité

Comme évoqué précédemment, les micro-algues d'eau douce contiennent très peu de matière inorganique (2-7 %). Cependant d'après la littérature, il est possible de retrouver des traces de certains métaux pouvant agir sur la composition et le rendement en bio-huile. La présence de fer, fixé dans les structures de porphyrines provenant de la chlorophylle, a tendance à former des particules problématiques par la suite pour le raffinage catalytique. Les traces de sodium, principalement issues du milieu de culture, se fixent aux parois des réacteurs et peuvent poser des problèmes d'encrassement. Les cendres peuvent aussi couvrir la surface des composés organiques et encrasser les parois du réacteur ce qui limite la production de bio-huile [35,79].

4.7. Répartition des produits dans les différentes phases

Les parties précédentes nous ont permis d'avoir un aperçu des molécules formées durant la réaction de liquéfaction hydrothermale de micro-algues. Celles-ci sont réparties selon leur structure chimique entre les différents produits de l'HTL : la bio-huile, la phase aqueuse et le char.

Le choix du solvant d'extraction a un impact sur la répartition des molécules entre la phase solide et la bio-huile mais on peut distinguer de manière générale six familles de molécules dans les bio-huiles : les composés aliphatiques : alcanes, alcènes ; les acides gras et esters d'acides gras ; les monoaromatiques : phénols, dérivés benzoïques... ; les composés azotés : amines, amides, hétérocycles azotés... ; les polyaromatiques et les autres molécules oxygénées : cétones, aldéhydes, alcools... [25].

La bio-huile contient entre 65 et 75 % de carbone, 5 et 10 % d'hydrogène, entre 2 et 10 % d'azote et 10 à 35 % d'oxygène. La proportion en soufre varie généralement entre 0,1 et 2,5 % selon l'espèce d'algue choisie [25,79]. L'azote et l'oxygène ont un effet négatif sur le pouvoir calorifique de la bio-huile, autrement dit la quantité de chaleur dégagée par unité de masse lors de la combustion complète du fuel. Il est déterminé par le calcul du PCS (Pouvoir

Calorifique supérieur) (ou HHV (*High Heating Value*)) et est généralement compris entre 27 et 37 MJ/kg pour la bio-huile issue d'HTL de micro-algues, sachant que le PCS de la biomasse de départ est en général de 12-25 MJ/kg [99]. Cependant la bio-huile de liquéfaction reste moins énergétique que le pétrole avec un PCS compris entre 40 et 45 MJ/kg [25].

Concernant les propriétés physiques de la bio-huile, on s'intéressera à la densité et à la viscosité qui sont des paramètres déterminant la qualité, notamment lors de l'injection et de la combustion dans un moteur thermique. Les huiles peuvent être divisées en différentes classes selon leur densité, les huiles légères (moins de 0,87 g/cm³), les huiles moyennement denses (entre 0,87 et 0,92 g/cm³), les huiles lourdes (entre 0,92 et 1 g/cm³) et les huiles très lourdes (> 1 g/cm³). La plupart des bio-huiles obtenue en sortie d'HTL à partir de micro-algues sont lourdes ou très lourdes [25]. La viscosité représente la fluidité de la bio-huile, plus elle est faible, plus il sera facile de la raffiner mais également de la brûler, une bio-huile visqueuse nécessitera des injecteurs spécifiques et robuste et beaucoup d'énergie pour être pompée [25]. L'augmentation de la viscosité est principalement due aux longues chaînes d'acides gras et d'hydrocarbures formées lors de la liquéfaction [25,99]. Comme exemple, la bio-huile issue de la liquéfaction de *Dunaliella tertiolecta* à 340 °C et 60 min a une viscosité à 50 °C de 150 mPa.s [146].

La stabilité du produit est à prendre en compte pour la production industrielle d'une bio-huile, elle doit pouvoir être facilement stockée et transportée vers une raffinerie par la suite. Wang et al. (2019) se sont intéressés au stockage des bio-huiles en faisant varier différents paramètres : la température, l'environnement (stabilité à l'oxydation), la densité de lumière et le temps de stockage. Finalement, le stockage dépend de l'espèce qui a été traitée mais aussi de la température, un stockage à 4 °C dans un contenant en acier semble être la meilleure solution pour palier à la polymérisation des molécules [147].

Les composés présents en phase aqueuse sont des molécules organiques telles que des acides organiques à chaîne courte (acétique, propanoïque) et leurs sels, des aldéhydes et cétones mais également des éléments tels que le phosphore ou l'azote [25]. La phase aqueuse peut également contenir en moindres quantités des métaux lourds ou encore des molécules cycliques azotées ou oxygénées. Son pH est variable en fonction de la ressource, si elle est riche en protéine le pH sera aux alentours de 8-9 à cause de la présence des ions ammonium issus des nombreuses désaminations alors qu'une ressource riche en lipides et carbohydrates donnera une phase aqueuse à faible pH (3-4). Le pH peut également être contrôlé par les conditions de liquéfaction, par exemple, une montée en température favorisera les réactions de décarboxylation et désamination donc on observera une augmentation du pH [148].

Le char est la partie non soluble dans l'eau et le solvant, il est principalement constitué de polymères, de molécules à haut poids moléculaire et de composés inorganiques et la phase gazeuse est principalement composée de CO₂, de CH₄, de CO et d'un peu d'H₂ selon la température appliquée lors de l'HTL.

La connaissance de la réactivité permet de modéliser le devenir des produits issus de liquéfaction hydrothermale. La prédiction du rendement et de la composition des produits en fonction de la composition de la biomasse de départ et des paramètres du procédé est essentielle au développement du procédé à grande échelle. Un aperçu des avancés en terme de modélisation est effectué dans la partie suivante.

5. Etat de l'art sur la modélisation de la conversion par liquéfaction hydrothermale

Deux types de modélisation sont présentés dans la littérature, des modèles paramétriques globaux comme les modèles additifs et ceux issus d'une étude par *machine learning* et des modèles plus détaillés de type cinétique. Pour les modèles paramétriques, les paramètres d'entrée peuvent être la composition des micro-algues et les paramètres de l'HTL et en sortie on pourra obtenir le rendement des différents produits et dans certains cas leur composition élémentaire. Dans le cas des modèles cinétiques, les paramètres d'entrée sont la composition de la biomasse et les résultats en sortie sont le plus souvent les rendements des différents produits. Ces derniers prennent en compte un schéma réactionnel et visent à étudier le comportement de familles de molécules en fonction de la température et du temps de séjour.

5.1. Modélisation du rendement et de la composition de la bio-huile

Les modèles additifs linéaire construits à partir de la composition biochimique (lipides, protéines, carbohydrates), comme représenté par l'équation (1. 1), ont été les premiers outils de prédiction. Biller et al. (2011) [83] l'ont appliqué à des essais sur *Chlorella* et *Nannochloropsis* et Yang et al. (2015) [117] sur des algues pauvres en lipides. Cependant,

dans les deux cas, ce modèle ne permet pas de considérer d'autres types d'algues comme *Spirulina* ou *Phorphyridium*, riches en inorganiques [83].

$$Y_{\text{bio-huile}} (\%) = Y_{\text{protéines}} (\%) * \text{protéines} (\%) + Y_{\text{carbohydrates}} (\%) * \text{carbohydrates} (\%) + Y_{\text{lipides}} (\%) * \text{lipides} (\%) \quad (1. 1)$$

Plusieurs études ont montré que les lipides étaient les principaux composants influençant le rendement en bio-huile, Leow et al. (2015) [149] ont donc proposé un modèle additif sur *Nannochloropsis* prenant en compte les acides gras comme dans l'équation (1. 2).

$$Y_{\text{bio-huile}} (\%) = \text{Acides gras} + X_{\text{bio-huile}} * (100\% - \text{acides gras}) \quad (1. 2)$$

$Y_{\text{bio-huile}}$: Rendement massique en bio-huile (%)

Acides gras : Quantité de FAMES (%)

$X_{\text{bio-huile}}$: Rendement massique en bio-huile issu d'HTL d'une algue sans lipides (%)

Ce modèle considère d'une part la contribution des acides gras au rendement en biocrude et d'une autre les protéines et carbohydrates mais les interactions entre les macromolécules ne sont pas prises en compte. Teri et al. (2014) [150] ont été les premiers à démontrer l'importance des interactions en étudiant 6 composés modèles seuls, en mélange binaire ou ternaire. Sheng et al. (2018) [151] ont confirmé cette affirmation. De plus, le plan d'expérience réalisé par Déniel et al. (2017) [152] a montré l'importance de choisir des polymères en tant que composés modèles des carbohydrates.

Il est également essentiel de considérer les paramètres d'HTL pour la prédiction du rendement en bio-huile. Jie Yang et al. (2018) [118] ont proposé un modèle incluant l'interaction entre les macromolécules, la cellulose et l'hémicellulose en tant que molécules modèles et ont enrichi ce modèle en 2019 [138] en ajoutant les paramètres de l'HTL tels que la température, le temps de séjour et le ratio massique eau/biomasse dans leur équation. Arturi et al. (2016) [123] ont fait une analyse multivariée des données pour prédire le rendement en bio-huile, en considérant la composition de la biomasse et les paramètres de l'HTL. Cependant, cette étude a conclu sur la difficulté à prédire le rendement en bio-huile en considérant, les protéines, lipides, lignine et lignocellulose. La prédiction sur plusieurs biomasses a donné un faible coefficient de corrélation : $R^2 = 0,15$, tout comme la prédiction sur les algues avec un $R^2 = 0,43$.

Li et al. (2017) [153] ont été les premiers à collecter des données de plusieurs études et à en déduire une forte corrélation entre la composition de la biomasse (lipides, protéines, carbohydrates, cendres) et le rendement ou la qualité des produits à travers la composition en carbone, hydrogène et azote de la bio-huile, de la phase aqueuse et du char. Cependant, cette étude n'est valide qu'à 300 °C et 30 min d'expérience.

La modélisation par *machine learning* est de plus en plus considérée vis-à-vis du nombre grandissant d'expériences réalisé. La plupart des méthodes utilisées se basent sur le principe de l'arbre de décision, on trouve alors la méthode classique d'arbre de décision (*Decision Tree, DT*) et des méthodes dérivées telles que la forêt d'arbre de décision (*Random Forest, RF*) ou la méthode d'amplification de gradient (*Gradient Boosting, GB*). Les différentes méthodes sont détaillées dans le Chapitre II. On considère en entrée à la fois la composition biochimique de la biomasse et les paramètres opératoires afin de prédire en sortie le rendement en bio-huile et la composition élémentaire dans certains cas. Comme illustré en Figure I-22, la régression par GB est plus performante que la méthode RF dans l'étude de Zhang et al. (2021) considérant 310 essais avec 42 espèces de micro-algues et 21 espèces de macro-algues [154]. Li et al. (2021) ont pris en compte différentes ressources (déchets alimentaires, boues, fumier, micro et macro-algues) et incluent des informations concernant le solvant d'extraction (masse molaire, polarité, point d'ébullition et densité), dans ce cas le RF est plus efficace [155]. Katongtung et al. (2022) ont également testé des modèles de régression par support vectoriel de type KRR (Kernel ridge regression) par comparaison avec le GB et le RF [156].

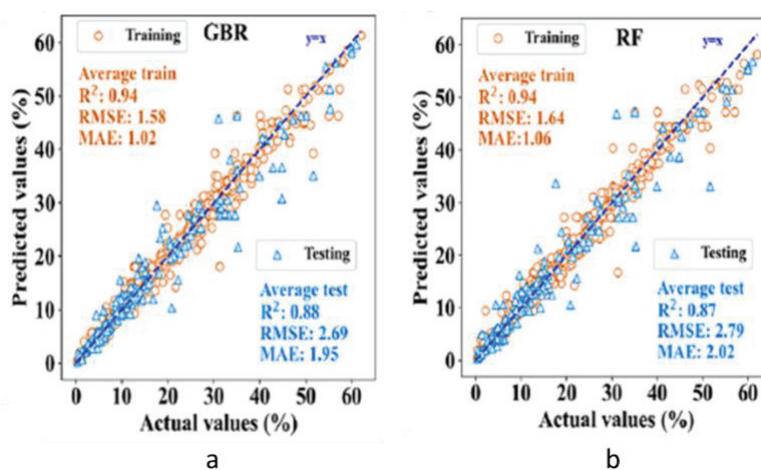


Figure I-22 : Comparaison des modélisations par GB (a) et RF (b) pour la prédiction du rendement massique en bio-huile, du taux d'azote et d'oxygène dans les bio-huiles avec comme paramètres d'entrée la composition biochimique et les paramètres d'HTL

Ces modèles prédisent le rendement en bio-huile ou char mais aucun d'eux ne cible la prédiction de la concentration de molécules spécifiques. Madsen et al. (2016) [137] se sont intéressés à cet aspect sur la phase aqueuse en proposant un modèle qui prédit la concentration de plusieurs molécules (acide acétique, succinique, pyrazines et phénol..) pour un set de conditions. Lopez Barreiro et al. (2018) [157] ont déterminé des molécules représentatives par Pyrolyse-GC-MS qui pourraient être incluses dans de futurs modèles. Cette approche sur la bio-huile pourrait améliorer la compréhension de formation des molécules azotés et permettre de sélectionner une biomasse adaptée aux produits voulus.

Pour conclure, beaucoup d'études considèrent la biomasse en tant que lipides, protéines et carbohydrates mais en vue de la complexité de la biomasse (détaillée en partie 2), l'approche reste très globale. Ces modèles sont intéressants si on se focalise sur une ressource en particulier (par exemple une espèce d'algue) mais pas assez précis pour prédire le rendement ou la qualité d'une bio-huile issue de différentes ressources. Il est alors important de considérer les familles de molécules individuellement. La partie suivante présente les modélisations cinétiques associées à l'HTL des micro-algues, celles-ci considèrent la réactivité en conditions de liquéfaction hydrothermale.

5.2. Modélisation cinétique

Valdez et Savage [158] proposent en 2013 la première modélisation cinétique associée à la réaction de liquéfaction hydrothermale. Généralement, les essais sont réalisés dans des micro-batch (1-5 ml) insérés dans des bains de sables pré-chauffés à la bonne température, cela exclut donc les réactions secondaires associées à la rampe de température [45,159]. De même pour le refroidissement, réalisé en plongeant le réacteur dans un bain de glace ou en utilisant une circulation d'eau froide. Les produits sont ensuite quantifiés à différentes température et temps de réaction. La plupart du temps, la dénomination biocrude correspond à la bio-huile obtenue après extraction par solvant. De plus, la petite taille des réacteurs nécessite l'extraction par solvant directement dans le réacteur, en contact avec l'eau, ce qui implique l'extraction de molécules polaires dans le solvant [45,159].

Les modélisations cinétiques requièrent une connaissance en termes de réactivité et d'évolution des phases, la plupart des schémas cinétiques sont basés sur des observations préalables.

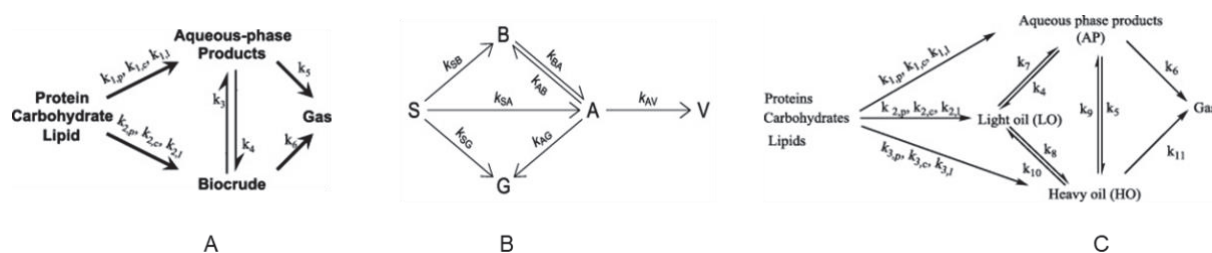


Figure I-23 : **A** : schéma cinétique de Valdez et al. (2014) [88] ; **B** : schéma cinétique de Hietala et al. (2016) [160] avec S = solide, G=gaz, A=phase aqueuse, V=volatiles ; **C** : schéma cinétique de Vo et al. (2017) [161]

Le schéma cinétique A, Figure I-23, de Valdez et al. (2014) [88] et inspiré de leur précédente étude [158] est basé sur des essais avec plusieurs types de micro-algues (*Chlorella protothecoides*, *Scenedesmus sp.* et *Nannochloropsis sp.*) réalisés à 250, 300, 350 et 400 °C pendant 10, 20, 30, 40 et 90 min et avec 15 % en masse d'algues. C'est le premier à inclure à la fois la composition en micro-algues (protéines, lipides et carbohydrates) et les paramètres du procédé (T°C, temps de réaction) pour prédire le rendement en biocrude, phase aqueuse et gaz. Ils considèrent que les protéines, lipides et carbohydrates sont distribués entre la phase aqueuse et le biocrude, qu'il y a des transferts de molécules entre le biocrude et la phase aqueuse pendant la réaction et que la phase gazeuse qui résulte est formé par les volatiles issus de la phase aqueuse et du biocrude. Vo et al. [162] ont décidé d'appliquer le même schéma cinétique à *Aurantiochytrium sp.*, plus récemment Saral et al. [163] l'ont appliqué à *Spirulina platensis* et Sheehan et Savage (2017) [164] ont ajouté un terme d'interaction qui prend en compte la réaction de Maillard ou de formation des amides dans la prédiction du rendement en biocrude. Cependant, le modèle avec interactions est moins représentatif que celui sans interactions.

Hietala et al. (2016) [160] ont proposé un autre schéma cinétique (Figure I-23, B) basé sur des expériences réalisées avec *Nannochloropsis sp.* en HTL rapide (110-350 °C/min) avec des temps de séjour plus courts que dans les autres études (à partir de 10 s). Ils ont supposé que le biocrude, la phase aqueuse et gazeuse viennent de la partie solide directement contrairement au schéma de Valdez et al. [88] qui supposait que la phase gazeuse venait exclusivement de la dégradation de la phase aqueuse et du biocrude. Cependant, la composition macromoléculaire n'est pas considérée en entrée.

En 2017, Vo et al. (2017) [161] ont proposé un schéma réactionnel (Figure I-23, C) basé sur celui utilisé par Valdez et al. (2014) [88]. Ce modèle prend en compte différentes fractions de bio-huiles en fonction de la solubilité à l'hexane. La fraction légère de la bio-huile contient les molécules polaires contrairement à la fraction lourde donc il est possible de savoir quand les molécules hétérocycliques (solubles dans l'hexane) sont produites. De même, la fraction

légère de la bio-huile contient des petites molécules polaires issues de la dégradation des protéines et lipides, il est donc possible de suivre leur formation.

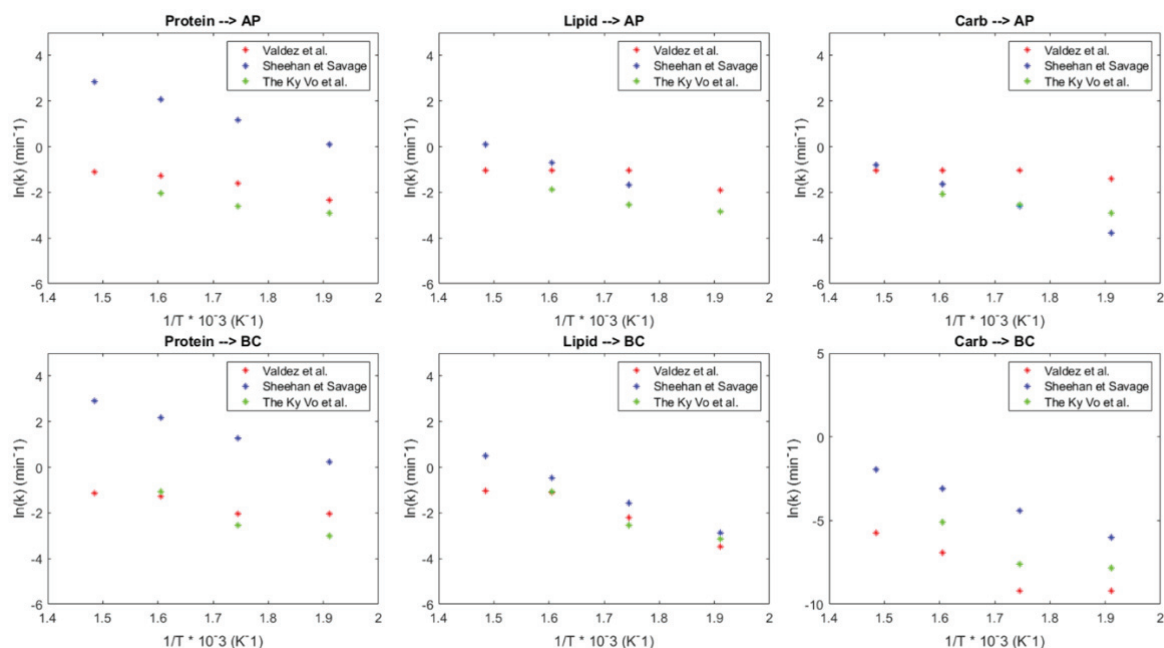


Figure I-24 : Constantes cinétiques issues de la littérature [88,161,164] (BC: Biocrude, AP: Aqueous Phase) déterminées à 250, 300, 350 et 400 °C pour Valdez et al. et Sheehan et Savage et à 250, 300 et 350 °C pour The Ky Vo et al.

La Figure I-24 représente les constantes cinétiques des différentes modélisations cinétiques. Les constantes cinétiques de la répartition des lipides et protéines en phase aqueuse et dans le biocrude ont globalement le même ordre de grandeur mais la transformation des carbohydrates en biocrude est plus lente que les autres. Les carbohydrates sont en effet en grande partie dégradés en molécules solubles en phase aqueuse ou en molécules à haut poids moléculaire allant dans le char. De plus, les constantes diffèrent en fonction du modèle considéré, Sheehan et Savage ont globalement trouvé des constantes plus élevées que les autres. Cela peut être dû à la prise en compte des interactions et particulièrement des réactions de Maillard. Concernant les paramètres, la même tendance est observée dans tous les cas : les hautes températures favorisent des constantes élevées.

Ces modèles permettent de prédire le rendement en bio-huile mais ne donnent pas d'informations sur les molécules présentes dans la bio-huile. Hietala et Savage (2021) [82] ont été les premiers à introduire un schéma réactionnel plus précis. Ils ont collecté des données de plusieurs études, incluant différentes espèces d'algues (*Nannochloropsis*, *Chlorella*, *Spirulina*...) et une large gamme de température pour proposer un schéma réactionnel prenant en compte des réactions de dégradation spécifiques. Cependant, le principe reste le même, seuls les rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz ont été suivis pour la prédiction, aucun profil de molécules n'a été réalisé.

Les principales réactions de dégradation représentées sont : l'hydrolyse, la décarboxylation, la désamination, la repolymérisation, la cyclodéshydratation, la condensation rétro-aldol et les réactions de Maillard. Les aspects moléculaires sont mis en avant en introduisant les acides gras (FA), les peptides (PEP), les polypeptides (PPE), les polysaccharides (PSA), les saccharides (Sac) et les catégories d'acides aminés (AA_1 et AA_2) séparées par le nombre de fonction amines (comme pour le biocrude et la phase aqueuse) : par exemple, AA_1 , AQ_1 et BC_1 contiennent des molécules avec une fonction amine. Après les réactions d'hydrolyse et intermoléculaires, les molécules sont réparties dans les différentes phases.

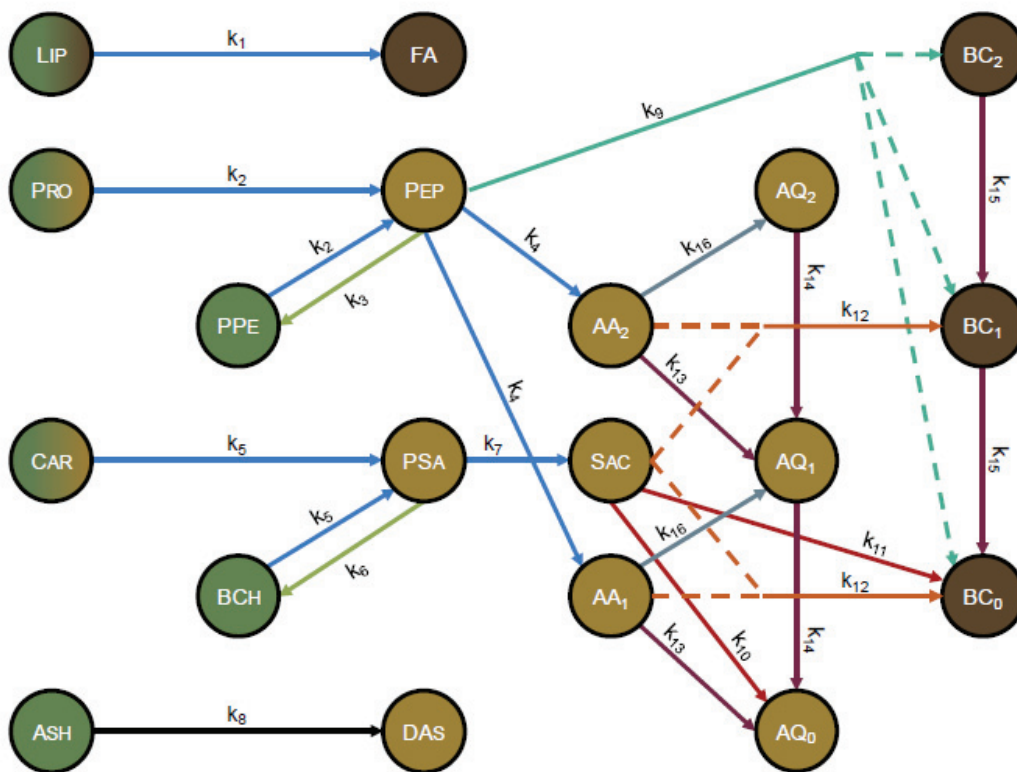


Figure I-25 : Modèle cinétique proposé par Hietala and Savage (2021) [82]

Ce modèle prend en compte les principales voies réactionnelles, comme les réactions de Maillard, les désaminations et prédit à la fois l'azote et la quantité en carbone dans le biocrude, la phase aqueuse, le gaz et le solide. Cette approche est donc intéressante pour avoir un aperçu de la qualité de la bio-huile, par rapport à l'azote, mais aucune indication n'est donnée sur la voie de formation de ces molécules.

6. Conclusion

Le développement des nouvelles énergies et le changement des habitudes de consommation est essentiel au monde de demain. L'augmentation de la population et de la demande énergétique ne cesse de s'accroître et parallèlement la réserve en énergies fossiles s'appauvrit d'années en années. Le développement des biocarburants fait partie des solutions intéressantes pour faire face à ces problématiques, en complément d'autres méthodes de production d'énergie. Ils ont l'avantage d'être issus de ressources renouvelables et de mettre en avant la fermeture du cycle du carbone, intéressante d'un point de vue environnemental. Cette thèse est centrée sur la production de biocarburants de 3^{ème} génération donc sur la valorisation énergétique de micro-algues.

Les micro-algues ont un fort potentiel, à la fois d'un point de vue de leur forte productivité mais aussi par leur capacité à capter le CO₂. A travers ce chapitre, différents enjeux concernant la production de biocarburants de 3^{ème} génération ont été répertoriés, on met notamment en avant le fait que la culture et la transformation des micro-algues par HTL sont les points limitants à la montée en échelle de ce procédé.

La liquéfaction hydrothermale possède de nombreux avantages. Tout d'abord, par rapport à la plupart des procédés thermochimiques, aucune étape de séchage n'est nécessaire, ce qui a un impact non négligeable sur la diminution des coûts et de l'impact environnemental. De plus, les conditions utilisées sont douces (300 °C, 100 bar) et permettent de limiter la consommation énergétique. Le projet RAFBIOALG inclut également une étude dédiée au recyclage de la phase aqueuse en vue de cultiver les micro-algues, ce qui apporte une valeur ajoutée à la chaîne de production. Ce procédé nécessite cependant des améliorations, le rendement doit être optimisé et le développement du procédé en continu a encore de nombreux verrous, notamment lors de l'étape de séparation de la bio-huile après liquéfaction. Pour finir, une compréhension plus complète du procédé d'un point de vue réactionnel est nécessaire afin d'optimiser au mieux le rendement et la qualité de la bio-huile produite en fonction de la composition initiale de la biomasse.

La première approche de cette thèse consiste en une étude globale de la réactivité de la biomasse en fonction de sa composition pour différentes conditions de liquéfaction hydrothermale (température, temps de séjour, taux de matière organique). Cette étude est présentée dans le chapitre III. Elle conduit à une première modélisation par régression linéaire et par *machine learning* permettant de prédire le rendement en bio-huile et le taux d'azote dans la bio-huile.

Par la suite, la compréhension des mécanismes réactionnels sera étudiée, une première approche est proposée dans la partie 4 de ce chapitre. Cela permet de se rendre compte de la diversité des mécanismes impliqués dans ce procédé. Un des objectifs de la thèse sera de construire un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* en se basant sur les schémas détaillés dans la littérature.

Le dernier chapitre de cette thèse s'intéresse à la modélisation cinétique du procédé. Elle permettra de mieux prendre en compte la réactivité des molécules impliquées dans ce procédé.

Finalement, cette thèse permettra d'apporter une meilleure compréhension du procédé en vue de produire un carburant à haut rendement et de bonne qualité.

Références

- [1] International Energy Agency (IEA), Key World Energy Statistics 2021, n.d. <https://www.iea.org/reports/key-world-energy-statistics-2021>.
- [2] DAES de l'Organisation des Nations Unies, Situation de la population mondiale en 2014, Nations Unies, New York, 2014.
- [3] M. Kumar, Y. Sun, R. Rathour, A. Pandey, I.S. Thakur, D.C.W. Tsang, Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: Opportunities and challenges, *Science of The Total Environment*. 716 (2020) 137116. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137116>.
- [4] E.E. Michaelides, *Alternative Energy Sources*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2012. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20951-2>.
- [5] Les enjeux du secteur transport, IFP Energies nouvelles. (n.d.). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/transports/les-enjeux-du-secteur-transport> (accessed August 28, 2020).
- [6] British Petroleum Company, BP Statistical Review of World Energy, 2021.
- [7] Stefan Lechtenböhmer, Lars J. Nilsson, *Sustainable Energy Systems*, in: *Sustainability Science*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2016. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7242-6>.
- [8] T. Mathimani, N. Mallick, A review on the hydrothermal processing of microalgal biomass to bio-oil - Knowledge gaps and recent advances, *Journal of Cleaner Production*. 217 (2019) 69–84. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.129>.
- [9] D. Ballerini, *Les biocarburants: Répondre aux défis énergétiques et environnementaux des transports*, Editions Technip, 2011.
- [10] IEA (2021), *Global Energy Review: CO2 Emissions in 2020*, (n.d.). <https://www.iea.org/articles/global-energy-review-co2-emissions-in-2020>.
- [11] GIEC, *Réchauffement planétaire de 1,5°C*, 2018.
- [12] GIEC, *Bilan 2007 des changements climatiques : Rapport de synthèse*, 2008.
- [13] E.L. Marshall, K. Owen, Royal Society of Chemistry (Great Britain), *Society of Chemical Industry, Motor gasoline*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995.
- [14] Tout savoir sur le pétrole, IFP Energies nouvelles. (n.d.). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies-fossiles/tout-savoir-petrole> (accessed August 28, 2020).
- [15] *Quelle est la différence entre l'essence et le gazole ?*, *Connaissance des énergies*. (2017). <https://www.connaissancedesenergies.org/quelle-est-la-difference-entre-l-essence-et-le-gazole-120626> (accessed May 8, 2020).
- [16] D. Lorne, A. Bouter, *Les biocarburants dans le secteur des transports routiers*, IFP Energies nouvelles. (2020). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/article/tableau-bord-biocarburants-2020> (accessed March 22, 2022).
- [17] P. Morone, L. Cottoni, *Biofuels*, in: *Handbook of Biofuels Production*, Elsevier, 2016: pp. 61–83. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00004-7>.
- [18] *Biocarburants*, Ministère de la transition écologique et solidaire. (2020). <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/biocarburants#e5> (accessed May 8, 2020).
- [19] D. Ballerini, *Les biocarburants: état des lieux, perspectives et enjeux du développement*, Editions Technip, 2006.

- [20] Le cadre législatif européen des biocarburants en quelques dates clés, Valbiomag. (2018). <https://valbiomag.labiomasseenwallonie.be/news/le-cadre-legislatif-europeen-des-biocarburants-en-quelques-dates-cles> (accessed April 6, 2020).
- [21] Biocarburants avancés : quel avenir dans les transports ? (la synthèse), IFP Energies Nouvelles. (2019). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/article/biocarburants-avancees-quel-avenir-les-transport-synthese> (accessed August 28, 2020).
- [22] Quel avenir pour les biocarburants ?, IFP Energies nouvelles. (n.d.). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies-renouvelables/quel-avenir-les-biocarburants> (accessed August 27, 2020).
- [23] D. Lorne, A. Bouter, Les biocarburants dans le secteur des transports routiers, IFP Energies nouvelles. (2019). <https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/article/tableau-bord-biocarburants-2019> (accessed June 29, 2020).
- [24] F. Delrue, Micro-algues et biocarburants de 3ème génération, (2013).
- [25] M.S. Vlaskin, A. Grigorenko, N. Chernova, S. Kiseleva, I.A. Lipatova, O.S. Popel, L.A. Dombrovsky, The hydrothermal liquefaction as a promising procedure for microalgae-to-biofuel conversion: A general review and some thermophysical problems to be solved, *High Temp.-High Press.* 48 (2019) 309–351. <https://doi.org/10.32908/hthp.v48.716>.
- [26] R. Edwards, V. Mahieu, J.-C. Griesemann, J.-F. Larivé, D.J. Rickeard, Well-to-Wheels Analysis of Future Automotive Fuels and Powertrains in the European Context, in: 2004: pp. 2004-01–1924. <https://doi.org/10.4271/2004-01-1924>.
- [27] Efstathios E. (Stathis) Michaelides, *Alternative Energy Sources*, Springer, 2012.
- [28] J. Person, *Livre Turquoise : Algues, filières du futur*, Adebitech, 2011.
- [29] Y. Chisti, Constraints to commercialization of algal fuels, *Journal of Biotechnology.* 167 (2013) 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.07.020>.
- [30] J.L. Wagner, J. Perin, R.S. Coelho, V.P. Ting, C.J. Chuck, T. Teixeira Franco, Hydrothermal Conversion of Lipid-Extracted Microalgae Hydrolysate in the Presence of Isopropanol and Steel Furnace Residues, *Waste and Biomass Valorization.* 9 (2018) 1867–1879. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9944-7>.
- [31] I. Gifuni, A. Pollio, C. Safi, A. Marzocchella, G. Olivieri, Current Bottlenecks and Challenges of the Microalgal Biorefinery, *Trends in Biotechnology.* 37 (2019) 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.09.006>.
- [32] Y. Zhu, S.B. Jones, A.J. Schmidt, K.O. Albrecht, S.J. Edmundson, D.B. Anderson, Techno-economic analysis of alternative aqueous phase treatment methods for microalgae hydrothermal liquefaction and biocrude upgrading system, *Algal Research.* 39 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101467>.
- [33] S.B. Jones, Y. Zhu, D.B. Anderson, R.T. Hallen, D.C. Elliott, A.J. Schmidt, K.O. Albrecht, T.R. Hart, M.G. Butcher, C. Drennan, L.J. Snowden-Swan, R. Davis, C. Kinchin, *Process Design and Economics for the Conversion of Algal Biomass to Hydrocarbons: Whole Algae Hydrothermal Liquefaction and Upgrading*, 2014. <https://doi.org/10.2172/1126336>.
- [34] Y. Zhang, A. Kendall, Effects of system design and Co-product treatment strategies on the life cycle performance of biofuels from microalgae, *Journal of Cleaner Production.* 230 (2019) 536–546. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.137>.
- [35] F. Cheng, T. Le Doux, B. Treftz, S. Woolf, J. Yu, J. Miller, U. Jena, C.E. Brewer, Modification of a pilot-scale continuous flow reactor for hydrothermal liquefaction of wet biomass, *MethodsX.* 6 (2019) 2793–2806. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.11.019>.

- [36] M. Pearce, M. Shemfe, C. Sansom, Techno-economic analysis of solar integrated hydrothermal liquefaction of microalgae, *Applied Energy*. 166 (2016) 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.01.005>.
- [37] F. Delrue, Y. Li-Beisson, P.-A. Setier, C. Sahut, A. Roubaud, A.-K. Froment, G. Peltier, Comparison of various microalgae liquid biofuel production pathways based on energetic, economic and environmental criteria, *Bioresource Technology*. 136 (2013) 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.091>.
- [38] X. Liu, B. Saydah, P. Eranki, L.M. Colosi, B. Greg Mitchell, J. Rhodes, A.F. Clarens, Pilot-scale data provide enhanced estimates of the life cycle energy and emissions profile of algae biofuels produced via hydrothermal liquefaction, *Bioresource Technology*. 148 (2013) 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.112>.
- [39] E.D. Frank, A. Elgowainy, J. Han, Z. Wang, Life cycle comparison of hydrothermal liquefaction and lipid extraction pathways to renewable diesel from algae, *Mitig Adapt Strateg Glob Change*. 18 (2013) 137–158. <https://doi.org/10.1007/s11027-012-9395-1>.
- [40] Z. He, D. Xu, L. Liu, Y. Wang, S. Wang, Y. Guo, Z. Jing, Product characterization of multi-temperature steps of hydrothermal liquefaction of *Chlorella* microalgae, *Algal Research*. 33 (2018) 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.013>.
- [41] M.-O.P. Fortier, G.W. Roberts, S.M. Stagg-Williams, B.S.M. Sturm, Life cycle assessment of bio-jet fuel from hydrothermal liquefaction of microalgae, *Applied Energy*. 122 (2014) 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.01.077>.
- [42] N.D. Orfield, A.J. Fang, P.J. Valdez, M.C. Nelson, P.E. Savage, X.N. Lin, G.A. Keoleian, Life Cycle Design of an Algal Biorefinery Featuring Hydrothermal Liquefaction: Effect of Reaction Conditions and an Alternative Pathway Including Microbial Regrowth, *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2 (2014) 867–874. <https://doi.org/10.1021/sc4004983>.
- [43] S. Itoh, A. Suzuki, T. Nakamura, S. Yokoyama, Production of heavy oil from sewage sludge by direct thermochemical liquefaction, *Desalination*. 98 (1994) 127–133. [https://doi.org/10.1016/0011-9164\(94\)00137-5](https://doi.org/10.1016/0011-9164(94)00137-5).
- [44] Arnaud Hélias, Doris Brockmann, ANR RAFBIOALG project Task 4.1 Inventory and impact assesment of the inital system, 2020.
- [45] S. Raikova, M.J. Allen, C.J. Chuck, Hydrothermal liquefaction of macroalgae for the production of renewable biofuels, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. n/a (2019). <https://doi.org/10.1002/bbb.2047>.
- [46] M. Deniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Energy valorisation of food processing residues and model compounds by hydrothermal liquefaction, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 54 (2016) 1632–1652. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.017>.
- [47] I.L. Ross, S. Shah, B. Hankamer, N. Amiralian, Microalgal nanocellulose – opportunities for a circular bioeconomy, *Trends in Plant Science*. 26 (2021) 924–939. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.05.004>.
- [48] M.A. Borowitzka, J. Beardall, J.A. Raven, *The Physiology of Microalgae*, Springer, 2016. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-24945-2> (accessed June 3, 2022).
- [49] S.M. Changi, J.L. Faeth, N. Mo, P.E. Savage, Hydrothermal Reactions of Biomolecules Relevant for Microalgae Liquefaction, *Ind. Eng. Chem. Res.* 54 (2015) 11733–11758. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b02771>.
- [50] F. Obeid, T. Chu Van, R. Brown, T. Rainey, Nitrogen and sulphur in algal biocrude: A review of the HTL process, upgrading, engine performance and emissions, *Energy*

- Conversion and Management. 181 (2019) 105–119.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.11.054>.
- [51] C. Debnath, T.K. Bandyopadhyay, B. Bhunia, U. Mishra, S. Narayanasamy, M. Muthuraj, Microalgae: Sustainable resource of carbohydrates in third-generation biofuel production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 150 (2021) 111464.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111464>.
- [52] T. Liu, Z. Chen, Y. Xiao, M. Yuan, C. Zhou, G. Liu, J. Fang, B. Yang, Biochemical and Morphological Changes Triggered by Nitrogen Stress in the Oleaginous Microalga *Chlorella vulgaris*, *Microorganisms*. 10 (2022) 566.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10030566>.
- [53] F. Cheng, Z. Cui, K. Mallick, N. Nirmalakhandan, C.E. Brewer, Hydrothermal liquefaction of high- and low-lipid algae: Mass and energy balances, *Bioresource Technology*. 258 (2018) 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.100>.
- [54] A.R.K. Gollakota, N. Kishore, S. Gu, A review on hydrothermal liquefaction of biomass, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 81 (2018) 1378–1392.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.178>.
- [55] R.H. Garrett, C.M. Grisham, B. Lubochinsky, *Biochimie, Paris, France, Belgique*, 2000.
- [56] E.W. Becker, Micro-algae as a source of protein, *Biotechnology Advances*. 25 (2007) 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- [57] M.R. Brown, The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 145 (1991) 79–99. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(91\)90007-J](https://doi.org/10.1016/0022-0981(91)90007-J).
- [58] D. Fithriani, E. Sinurat, Utilization of spirulina as functional food: Phytosterol and amino acid profiles study, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 278 (2019) 012028.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012028>.
- [59] G.A. Thompson, Lipids and membrane function in green algae, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*. 1302 (1996) 17–45.
[https://doi.org/10.1016/0005-2760\(96\)00045-8](https://doi.org/10.1016/0005-2760(96)00045-8).
- [60] I.A. Guschina, J.L. Harwood, Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry, in: M. Kainz, M.T. Brett, M.T. Arts (Eds.), *Lipids in Aquatic Ecosystems*, Springer, New York, NY, 2009: pp. 1–24. https://doi.org/10.1007/978-0-387-89366-2_1.
- [61] D. Couto, T. Melo, T.A. Conde, M. Costa, J. Silva, M.R.M. Domingues, P. Domingues, Chemoplasticity of the polar lipid profile of the microalgae *Chlorella vulgaris* grown under heterotrophic and autotrophic conditions, *Algal Research*. (2020) 102128.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102128>.
- [62] L. Yao, J.A. Gerde, S.-L. Lee, T. Wang, K.A. Harrata, Microalgae Lipid Characterization, *J. Agric. Food Chem.* 63 (2015) 1773–1787.
<https://doi.org/10.1021/jf5050603>.
- [63] V.A. Stonik, I.V. Stonik, Sterol and Sphingoid Glycoconjugates from Microalgae, *Marine Drugs*. 16 (2018) 514. <https://doi.org/10.3390/md16120514>.
- [64] S. Darnet, A. Blary, Q. Chevalier, H. Schaller, Phytosterol Profiles, Genomes and Enzymes – An Overview, *Frontiers in Plant Science*. 12 (2021).
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.665206> (accessed July 12, 2022).
- [65] G.W. Patterson, Sterols of some green algae, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 47 (1974) 453–457.
[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(74\)90075-3](https://doi.org/10.1016/0305-0491(74)90075-3).

- [66] A. Randhir, D.W. Laird, G. Maker, R. Trengove, N.R. Moheimani, Microalgae: A potential sustainable commercial source of sterols, *Algal Research*. 46 (2020) 101772. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101772>.
- [67] A.-M. Aguirre, A. Bassi, Investigation of biomass concentration, lipid production, and cellulose content in *Chlorella vulgaris* cultures using response surface methodology, *Biotechnol Bioeng*. 110 (2013) 2114–2122. <https://doi.org/10.1002/bit.24871>.
- [68] Nucléotide, Wikipédia. (2022). <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Nucl%C3%A9otide&oldid=195575588> (accessed August 5, 2022).
- [69] F. Pagels, D. Salvaterra, H.M. Amaro, A.C. Guedes, Chapter 18 - Pigments from microalgae, in: E. Jacob-Lopes, M.M. Maroneze, M.I. Queiroz, L.Q. Zepka (Eds.), *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*, Academic Press, 2020: pp. 465–492. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00018-X>.
- [70] N. Gargouch, Caractérisation de la microalgue rouge *Porphyridium marinum* sous différentes conditions de culture et valorisation de ces métabolites, phdthesis, Université de Sfax (Tunisie), 2018. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02389370> (accessed August 25, 2021).
- [71] S. Roy, C. Llewellyn, E. Egeland, G. Johnsen, Phytoplankton pigments : characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography, in: 2011. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511732263>.
- [72] F. Pagels, A.C. Guedes, H.M. Amaro, A. Kijjoa, V. Vasconcelos, Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications, *Biotechnology Advances*. 37 (2019) 422–443. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.010>.
- [73] J. Jiang, Phillip.E. Savage, Metals and Other Elements in Biocrude from Fast and Isothermal Hydrothermal Liquefaction of Microalgae, *Energy Fuels*. 32 (2018) 4118–4126. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b03144>.
- [74] J. Jiang, P.E. Savage, Using Solvents to Reduce the Metal Content in Crude Bio-oil from Hydrothermal Liquefaction of Microalgae, *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 58 (2019) 22488–22496. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b03497>.
- [75] D.C. Elliott, Historical Developments in Hydroprocessing Bio-oils, *Energy Fuels*. 21 (2007) 1792–1815. <https://doi.org/10.1021/ef070044u>.
- [76] ANCRE, GP1D : Etude sur la production de bio-huiles, (2017).
- [77] D.C. Elliott, Production of biofuels via bio-oil upgrading and refining, in: *Handbook of Biofuels Production*, Elsevier, 2016: pp. 595–613. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00019-9>.
- [78] H. Huang, X. Yuan, H. Zhu, H. Li, Y. Liu, X. Wang, G. Zeng, Comparative studies of thermochemical liquefaction characteristics of microalgae, lignocellulosic biomass and sewage sludge, *Energy*. 56 (2013) 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.04.065>.
- [79] Y. Hu, M. Gong, S. Feng, C. (Charles) Xu, A. Bassi, A review of recent developments of pre-treatment technologies and hydrothermal liquefaction of microalgae for bio-crude oil production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 101 (2019) 476–492. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.037>.
- [80] S. Kumar, R. Gupta, Biocrude Production from Switchgrass Using Subcritical Water, *Energy & Fuels - ENERG FUEL*. 23 (2009). <https://doi.org/10.1021/ef900379p>.
- [81] A. Kruse, N. Dahmen, Water – A magic solvent for biomass conversion, *The Journal of Supercritical Fluids*. 96 (2015) 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.09.038>.

- [82] D.C. Hietala, P.E. Savage, A molecular, elemental, and multiphase kinetic model for the hydrothermal liquefaction of microalgae, *CHEM ENG J (LAUSANNE)*. 407 (2021) 127007. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127007>.
- [83] P. Biller, A.B. Ross, Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.028>.
- [84] P. Biller, A.B. Ross, S.C. Skill, A. Lea-Langton, B. Balasundaram, C. Hall, R. Riley, C.A. Llewellyn, Nutrient recycling of aqueous phase for microalgae cultivation from the hydrothermal liquefaction process, *Algal Research*. 1 (2012) 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.02.002>.
- [85] D. López Barreiro, C. Zamalloa, N. Boon, W. Vyverman, F. Ronsse, W. Brilman, W. Prins, Influence of strain-specific parameters on hydrothermal liquefaction of microalgae, *Bioresource Technology*. 146 (2013) 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.123>.
- [86] W. Song, S. Wang, D. Xu, Y. Guo, C. Yang, J. Zhang, Y. Li, Comprehensive potential evaluation of the bio-oil production and nutrient recycling from seven algae through hydrothermal liquefaction, *Korean Journal of Chemical Engineering*. 36 (2019) 1604–1618. <https://doi.org/10.1007/s11814-019-0345-4>.
- [87] P. Duan, B. Jin, Y. Xu, Y. Yang, X. Bai, F. Wang, I z, J. Miao, Thermo-chemical conversion of *Chlorella pyrenoidosa* to liquid biofuels, *Bioresource Technology*. 133C (2013) 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.069>.
- [88] P.J. Valdez, V.J. Tocco, P.E. Savage, A general kinetic model for the hydrothermal liquefaction of microalgae, *Bioresource Technology*. 163 (2014) 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.013>.
- [89] J. Yang, Q.S. He, H. Niu, T. Astatkie, K. Corscadden, R. Shi, Statistical Clarification of the Hydrothermal Co-Liquefaction Effect and Investigation on the Influence of Process Variables on the Co-Liquefaction Effect, *Ind. Eng. Chem. Res.* 59 (2020) 2839–2848. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b06655>.
- [90] H.K. Reddy, T. Muppaneni, S. Ponnusamy, N. Sudasinghe, A. Pegallapati, T. Selvaratnam, M. Seger, B. Dungan, N. Nirmalakhandan, T. Schaub, F.O. Holguin, P. Lammers, W. Voorhies, S. Deng, Temperature effect on hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis gaditana* and *Chlorella* sp., *Applied Energy*. 165 (2016) 943–951. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.11.067>.
- [91] H. Li, Z. Liu, Y. Zhang, B. Li, H. Lu, N. Duan, M. Liu, Z. Zhu, B. Si, Conversion efficiency and oil quality of low-lipid high-protein and high-lipid low-protein microalgae via hydrothermal liquefaction, *Bioresource Technology*. 154 (2014) 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.074>.
- [92] S. Liang, L. Wei, M.L. Passero, K. Feris, A.G. McDonald, Hydrothermal liquefaction of laboratory cultivated and commercial algal biomass into crude bio-oil, *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 36 (2017) 781–787. <https://doi.org/10.1002/ep.12629>.
- [93] M. Jin, Y.-K. Oh, Y.K. Chang, M. Choi, Optimum Utilization of Biochemical Components in *Chlorella* sp. KR1 via Subcritical Hydrothermal Liquefaction, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5 (2017) 7240–7248. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b01473>.
- [94] C. Gai, Y. Zhang, W.-T. Chen, P. Zhang, Y. Dong, Energy and nutrient recovery efficiencies in biocrude oil produced via hydrothermal liquefaction of *Chlorella pyrenoidosa*, *RSC Adv.* 4 (2014) 16958–16967. <https://doi.org/10.1039/C3RA46607H>.

- [95] J. Watson, J. Lu, R. de Souza, B. Si, Y. Zhang, Z. Liu, Effects of the extraction solvents in hydrothermal liquefaction processes: Biocrude oil quality and energy conversion efficiency, *Energy*. 167 (2019) 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.11.003>.
- [96] C. Hognon, F. Delrue, J. Texier, M. Grateau, S. Thiery, H. Miller, A. Roubaud, Comparison of pyrolysis and hydrothermal liquefaction of *Chlamydomonas reinhardtii*. Growth studies on the recovered hydrothermal aqueous phase, *Biomass and Bioenergy*. 73 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.11.025>.
- [97] S. Alimoradi, H. Stohr, S. Stagg-Williams, B. Sturm, Effect of temperature on toxicity and biodegradability of dissolved organic nitrogen formed during hydrothermal liquefaction of biomass, *Chemosphere*. 238 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124573>.
- [98] S. Kandasamy, B. Zhang, Z. He, H. Chen, H. Feng, Q. Wang, B. Wang, V. Ashokkumar, S. Siva, N. Bhuvanendran, M. Krishnamoorthi, Effect of low-temperature catalytic hydrothermal liquefaction of *Spirulina platensis*, *Energy*. 190 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116236>.
- [99] W.S. Villaver, R.B. Carpio, K.J. Yap, R.L. De Leon, Effects of temperature and reaction time on yield and properties of biocrude oil produced by hydrothermal liquefaction of *spirulina platensis*, *International Journal of Smart Grid and Clean Energy*. 7 (2018) 32–41. <https://doi.org/10.12720/sgce.7.1.32-41>.
- [100] S. He, M. Zhao, J. Wang, Z. Cheng, B. Yan, G. Chen, Hydrothermal liquefaction of low-lipid algae *Nannochloropsis* sp. and *Sargassum* sp.: Effect of feedstock composition and temperature, *Science of The Total Environment*. 712 (2020) 135677. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135677>.
- [101] Z. Huang, A. Wufuer, Y. Wang, L. Dai, Hydrothermal liquefaction of pretreated low-lipid microalgae for the production of bio-oil with low heteroatom content, *Process Biochemistry*. 69 (2018) 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.03.018>.
- [102] C. Jazrawi, P. Biller, Y. He, A. Montoya, A.B. Ross, T. Maschmeyer, B.S. Haynes, Two-stage hydrothermal liquefaction of a high-protein microalga, *Algal Research*. 8 (2015) 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.010>.
- [103] M.R. Moazezi, H. Bayat, O. Tavakoli, A. Hallajisani, Hydrothermal liquefaction of *Chlorella vulgaris* and catalytic upgrading of product: Effect of process parameter on bio-oil yield and thermodynamics modeling, *Fuel*. 318 (2022) 123595. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123595>.
- [104] J. Arun, K.P. Gopinath, S.J. Shreekanth, R. Sahana, M.S. Raghavi, D. Gnanaprakash, Effects of Process Parameters on Hydrothermal Liquefaction of Microalgae Biomass Grown in Municipal Wastewater, *Pet. Chem*. 59 (2019) 194–200. <https://doi.org/10.1134/S0965544119020026>.
- [105] F. Behrendt, Y. Neubauer, M. Oevermann, B. Wilmes, N. Zobel, Direct Liquefaction of Biomass, *Chemical Engineering & Technology*. 31 (2008) 667–677. <https://doi.org/10.1002/ceat.200800077>.
- [106] J. Ni, L. Qian, Y. Wang, B. Zhang, H. Gu, Y. Hu, Q. Wang, A review on fast hydrothermal liquefaction of biomass, *Fuel*. 327 (2022) 125135. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.125135>.
- [107] A. Galadima, O. Muraza, Hydrothermal liquefaction of algae and bio-oil upgrading into liquid fuels: Role of heterogeneous catalysts, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 81 (2018) 1037–1048. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.034>.
- [108] D.C. Elliott, T.R. Hart, A.J. Schmidt, G.G. Neuenschwander, L.J. Rotness, M.V. Olarte, A.H. Zacher, K.O. Albrecht, R.T. Hallen, J.E. Holladay, Process development for

- hydrothermal liquefaction of algae feedstocks in a continuous-flow reactor, *Algal Research*. 2 (2013) 445–454. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.08.005>.
- [109] D.C. Elliott, P. Biller, A.B. Ross, A.J. Schmidt, S.B. Jones, Hydrothermal liquefaction of biomass: Developments from batch to continuous process, *Bioresource Technology*. 178 (2015) 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.132>.
- [110] C. Jazrawi, P. Biller, A. Ross, A. Montoya, T. Maschmeyer, B. Haynes, Pilot plant testing of continuous hydrothermal liquefaction of microalgae, *Algal Research*. 2 (2013) 268–277. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.04.006>.
- [111] D.C. Elliott, T.R. Hart, G.G. Neuenschwander, J.R. Oyler, L.J.R. JR, A.J. Schmidt, A.H. Zacher, System and process for efficient separation of biocrudes and water in a hydrothermal liquefaction system, US9404063B2, 2016. <https://patents.google.com/patent/US9404063B2/en> (accessed May 20, 2020).
- [112] Genifuel Corporation Closeout report for NAABB programm, DE-FOA-0000123, 2015.
- [113] J.D. Sheehan, P.E. Savage, Molecular and Lumped Products from Hydrothermal Liquefaction of Bovine Serum Albumin, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5 (2017) 10967–10975. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02854>.
- [114] X. Zhu, C. Zhu, L. Zhao, H. Cheng, Amino Acids Production from Fish Proteins Hydrolysis in Subcritical Water* *Supported by the National Natural Science Foundation of China (50578091) and Shanghai Leading Academic Discipline Project (T-105)., *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 16 (2008) 456–460. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(08\)60105-6](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(08)60105-6).
- [115] G. Zhu, X. Zhu, Q. Fan, X. Wan, Kinetics of amino acid production from bean dregs by hydrolysis in sub-critical water, *Amino Acids*. 40 (2011) 1107–1113. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0734-9>.
- [116] W. Abdelmoez, T. Nakahasi, H. Yoshida, Amino Acid Transformation and Decomposition in Saturated Subcritical Water Conditions, *Ind. Eng. Chem. Res*. 46 (2007) 5286–5294. <https://doi.org/10.1021/ie070151b>.
- [117] W. Yang, X. Li, Z. Li, C. Tong, L. Feng, Understanding low-lipid algae hydrothermal liquefaction characteristics and pathways through hydrothermal liquefaction of algal major components: Crude polysaccharides, crude proteins and their binary mixtures, *Bioresource Technology*. 196 (2015) 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.020>.
- [118] J. Yang, Q. (Sophia) He, H. Niu, K. Corscadden, T. Astatkie, Hydrothermal liquefaction of biomass model components for product yield prediction and reaction pathways exploration, *Applied Energy*. 228 (2018) 1618–1628. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.06.142>.
- [119] S. Changi, A.J. Matzger, P.E. Savage, Kinetics and pathways for an algal phospholipid (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) in high-temperature (175–350 °C) water, *Green Chem*. 14 (2012) 2856–2867. <https://doi.org/10.1039/C2GC35639B>.
- [120] D. Jiang, S. Wang, H. Li, L. Xu, X. Hu, B. Barati, A. Zheng, Insight into the Mechanism of Glycerol Dehydration and Subsequent Pyridine Synthesis, *ACS Sustainable Chem. Eng*. 9 (2021) 3095–3103. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07460>.
- [121] S.S. Toor, L. Rosendahl, A. Rudolf, Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies, *Energy*. 36 (2011) 2328–2342. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2011.03.013>.
- [122] J. Chen, J. Zhang, W. Pan, G. An, Y. Deng, Y. Li, Y. Hu, Y. Xiao, T. Liu, S. Leng, J. Chen, J. Li, H. Peng, L. Leng, W. Zhou, A novel strategy to simultaneously enhance bio-oil yield and nutrient recovery in sequential hydrothermal liquefaction of high

- protein microalgae, *Energy Conversion and Management*. 255 (2022) 115330.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115330>.
- [123] K.R. Arturi, S. Kucheryavskiy, E.G. Sogaard, Performance of hydrothermal liquefaction (HTL) of biomass by multivariate data analysis, *Fuel Process. Technol.* 150 (2016) 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.05.007>.
- [124] M. Déniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Hydrothermal liquefaction of blackcurrant pomace and model molecules: understanding of reaction mechanisms, *Sustainable Energy Fuels*. 1 (2017) 555–582.
<https://doi.org/10.1039/C6SE00065G>.
- [125] J. Lee, D. Choi, E.E. Kwon, Y.S. Ok, Functional modification of hydrothermal liquefaction products of microalgal biomass using CO₂, *Energy*. 137 (2017) 412–418.
<https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.03.077>.
- [126] Y. Fan, U. Hornung, K. Raffelt, N. Dahmen, The influence of lipids on the fate of nitrogen during hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 147 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104798>.
- [127] M. Déniel, Etude de la production de bio-huile par liquéfaction hydrothermale de résidus agroalimentaires et de leurs molécules modèles, 2016.
<http://www.theses.fr/2016EMAC0009/document>.
- [128] X. Tang, C. Zhang, X. Yang, Hydrothermal Liquefaction of Model Compounds Protein and Glucose: Effect of Maillard Reaction on Low Lipid Microalgae, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 611 (2019) 012026. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/611/1/012026>.
- [129] H.-M. Liu, M.-F. Li, S. Yang, R.-C. Sun, Understanding the Mechanism of Cypress Liquefaction in Hot-Compressed Water through Characterization of Solid Residues, *Energies*. 6 (2013) 1590–1603. <https://doi.org/10.3390/en6031590>.
- [130] S.K.R. Patil, J. Heltzel, C.R.F. Lund, Comparison of Structural Features of Humins Formed Catalytically from Glucose, Fructose, and 5-Hydroxymethylfurfuraldehyde, *Energy Fuels*. 26 (2012) 5281–5293. <https://doi.org/10.1021/ef3007454>.
- [131] G. Almendros, J. Sanz, L. Sobrados, Characterization of synthetic carbohydrate-derived humic-like polymers, *Science of The Total Environment*. 81–82 (1989) 91–98.
[https://doi.org/10.1016/0048-9697\(89\)90114-9](https://doi.org/10.1016/0048-9697(89)90114-9).
- [132] T.M. Aida, N. Shiraiishi, M. Kubo, M. Watanabe, R.L. Smith, Reaction kinetics of d-xylose in sub- and supercritical water, *The Journal of Supercritical Fluids*. 55 (2010) 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.08.013>.
- [133] S. Changi, T.M. Brown, P.E. Savage, Reaction kinetics and pathways for phytol in high-temperature water, *Chemical Engineering Journal*. 189–190 (2012) 336–345.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.02.021>.
- [134] J.M. Jarvis, N.M. Sudasinghe, K.O. Albrecht, A.J. Schmidt, R.T. Hallen, D.B. Anderson, J.M. Billing, T.M. Schaub, Impact of iron porphyrin complexes when hydroprocessing algal HTL biocrude, *Fuel*. 182 (2016) 411–418.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.05.107>.
- [135] C. Gai, Y. Zhang, W.-T. Chen, P. Zhang, Y. Dong, An investigation of reaction pathways of hydrothermal liquefaction using *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina platensis*, *Energy Conversion and Management*. 96 (2015) 330–339.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.02.056>.
- [136] Y. Qiu, A. Aierzhati, J. Cheng, H. Guo, W. Yang, Y. Zhang, Biocrude Oil Production through the Maillard Reaction between Leucine and Glucose during Hydrothermal

- Liquefaction, *Energy and Fuels*. 33 (2019) 8758–8765.
<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b01875>.
- [137] R.B. Madsen, P. Biller, M.M. Jensen, J. Becker, B.B. Iversen, M. Glasius, Predicting the Chemical Composition of Aqueous Phase from Hydrothermal Liquefaction of Model Compounds and Biomasses, *Energy and Fuels*. 30 (2016) 10470–10483.
<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02007>.
- [138] J. Yang, Q. (Sophia) He, K. Corscadden, H. Niu, J. Lin, T. Astatkie, Advanced models for the prediction of product yield in hydrothermal liquefaction via a mixture design of biomass model components coupled with process variables, *Applied Energy*. 233–234 (2019) 906–915. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.10.035>.
- [139] T. Minowa, S. Inoue, T. Hanaoka, Y. Matsumura, Hydrothermal reaction of glucose and glycine as model compounds of biomass, *Nihon Enerugi Gakkaishi/Journal of the Japan Institute of Energy*. 83 (2004) 794–798. <https://doi.org/10.3775/jie.83.794>.
- [140] F.A. Carey, R.J. Sundberg, Addition, Condensation and Substitution Reactions of Carbonyl Compounds, in: F.A. Carey, R.J. Sundberg (Eds.), *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*, Springer US, Boston, MA, 2007: pp. 629–711. https://doi.org/10.1007/978-0-387-44899-2_7.
- [141] X. Fu, Y. Liao, C.R. Glein, M. Jamison, K. Hayes, J. Zaporski, Z. Yang, Direct Synthesis of Amides from Amines and Carboxylic Acids under Hydrothermal Conditions, *ACS Earth Space Chem*. 4 (2020) 722–729.
<https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.0c00009>.
- [142] A. Matayeva, D. Bianchi, S. Chiaberge, F. Cavani, F. Basile, Elucidation of reaction pathways of nitrogenous species by hydrothermal liquefaction process of model compounds, *Fuel*. 240 (2019) 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.11.136>.
- [143] S. Chiaberge, I. Leonardis, T. Fiorani, G. Bianchi, P. Cesti, A. Bosetti, M. Crucianelli, S. Reale, F. De Angelis, Amides in bio-oil by hydrothermal liquefaction of organic wastes: A mass spectrometric study of the thermochemical reaction products of binary mixtures of amino acids and fatty acids, *Energy and Fuels*. 27 (2013) 5287–5297.
<https://doi.org/10.1021/ef4009983>.
- [144] Y. Fan, U. Hornung, N. Dahmen, A. Kruse, Hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass: study of model compounds for Maillard reactions, *Biomass Conv. Bioref*. 8 (2018) 909–923. <https://doi.org/10.1007/s13399-018-0340-8>.
- [145] W. Yang, Z. Wang, J. Han, S. Song, Y. Zhang, W. Gong, The role of polysaccharides and proteins in bio-oil production during the hydrothermal liquefaction of algae species, *RSC Advances*. 9 (2019) 41962–41969. <https://doi.org/10.1039/c9ra07150d>.
- [146] T. Minowa, S. Yokoyama, M. Kishimoto, T. Okakura, Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction, *Fuel*. 74 (1995) 1735–1738. [https://doi.org/10.1016/0016-2361\(95\)80001-X](https://doi.org/10.1016/0016-2361(95)80001-X).
- [147] A. Palomino, R.D. Godoy-Silva, S. Raikova, C.J. Chuck, The storage stability of biocrude obtained by the hydrothermal liquefaction of microalgae, *Renewable Energy*. 145 (2020) 1720–1729. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.084>.
- [148] L. Leng, J. Li, Z. Wen, W. Zhou, Use of microalgae to recycle nutrients in aqueous phase derived from hydrothermal liquefaction process, *Bioresource Technology*. 256 (2018) 529–542. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.121>.
- [149] S. Leow, J.R. Witter, D.R. Vardon, B.K. Sharma, J.S. Guest, T.J. Strathmann, Prediction of microalgae hydrothermal liquefaction products from feedstock biochemical composition, *Green Chem*. 17 (2015) 3584–3599.
<https://doi.org/10.1039/C5GC00574D>.

- [150] G. Teri, L. Luo, P.E. Savage, Hydrothermal Treatment of Protein, Polysaccharide, and Lipids Alone and in Mixtures, *Energy Fuels*. 28 (2014) 7501–7509. <https://doi.org/10.1021/ef501760d>.
- [151] L. Sheng, X. Wang, X. Yang, Prediction model of biocrude yield and nitrogen heterocyclic compounds analysis by hydrothermal liquefaction of microalgae with model compounds, *Bioresource Technology*. 247 (2018) 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.011>.
- [152] M. Déniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Modelling and Predictive Study of Hydrothermal Liquefaction: Application to Food Processing Residues, Waste and Biomass Valorization. 8 (2017) 2087–2107. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9726-7>.
- [153] Y. Li, S. Leow, A.C. Fedders, B.K. Sharma, J.S. Guest, T.J. Strathmann, Quantitative multiphase model for hydrothermal liquefaction of algal biomass, *Green Chem*. 19 (2017) 1163–1174. <https://doi.org/10.1039/C6GC03294J>.
- [154] W. Zhang, J. Li, T. Liu, S. Leng, L. Yang, H. Peng, S. Jiang, W. Zhou, L. Leng, H. Li, Machine learning prediction and optimization of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae, *Bioresource Technology*. 342 (2021) 126011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126011>.
- [155] J. Li, W. Zhang, T. Liu, L. Yang, H. Li, H. Peng, S. Jiang, X. Wang, L. Leng, Machine learning aided bio-oil production with high energy recovery and low nitrogen content from hydrothermal liquefaction of biomass with experiment verification, *Chemical Engineering Journal*. (2021) 130649. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130649>.
- [156] T. Katongtung, T. Onsree, N. Tippayawong, Machine learning prediction of biocrude yields and higher heating values from hydrothermal liquefaction of wet biomass and wastes, *Bioresource Technology*. 344 (2022) 126278. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126278>.
- [157] D. López Barreiro, F.J. Martin-Martinez, C. Torri, W. Prins, M.J. Buehler, Molecular characterization and atomistic model of biocrude oils from hydrothermal liquefaction of microalgae, *Algal Research*. 35 (2018) 262–273. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.034>.
- [158] P.J. Valdez, P.E. Savage, A reaction network for the hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp., *Algal Research*. 2 (2013) 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.08.002>.
- [159] X. Tang, C. Zhang, X. Yang, Optimizing process of hydrothermal liquefaction of microalgae via flash heating and isolating aqueous extract from bio-crude, *Journal of Cleaner Production*. 258 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120660>.
- [160] D.C. Hietala, J.L. Faeth, P.E. Savage, A quantitative kinetic model for the fast and isothermal hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp., *Bioresource Technology*. 214 (2016) 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.067>.
- [161] T.K. Vo, S.-S. Kim, H.V. Ly, E.Y. Lee, C.-G. Lee, J. Kim, A general reaction network and kinetic model of the hydrothermal liquefaction of microalgae *Tetraselmis* sp., *Bioresource Technology*. 241 (2017) 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.186>.
- [162] T.K. Vo, O.K. Lee, E.Y. Lee, C.H. Kim, J.-W. Seo, J. Kim, S.-S. Kim, Kinetics study of the hydrothermal liquefaction of the microalga *Aurantiochytrium* sp. KRS101, *Chemical Engineering Journal*. 306 (2016) 763–771. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.07.104>.

- [163] J.S. Saral, D.G.C.V. Reddy, P. Ranganathan, A general kinetic modelling for the hydrothermal liquefaction of *Spirulina platensis*, *Biomass Conv. Bioref.* (2022). <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03019-6>.
- [164] J.D. Sheehan, P.E. Savage, Modeling the effects of microalga biochemical content on the kinetics and biocrude yields from hydrothermal liquefaction, *Bioresource Technology*. 239 (2017) 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.013>.

Chapitre II : Matériels & méthodes

Ce chapitre présente tout d'abord les différentes conditions de culture des micro-algues qui ont été utilisées pour les essais en batch et en continu avec leur composition macromoléculaire et élémentaire. Ensuite, les installations qui ont permis de réaliser les essais de liquéfaction hydrothermale et les appareils et méthodes analytiques qui ont été utilisés pour caractériser les différents produits seront décrites. Et pour finir, les outils mathématiques et de modélisation qui ont permis de traiter les données seront présentés.

1. Les micro-algues

Deux espèces de micro-algues ont été sélectionnées par le CEA de Cadarache pour leur robustesse, leur taux de croissance et leur productivité en lipides. Ce dernier point peut être amélioré, selon l'espèce, en appliquant une carence en azote dans le milieu de culture. Après plusieurs cultures, il a été observé que la première souche (*C. sorokiniana*) avait tendance à accumuler des carbohydrates au lieu des lipides. Une autre souche (*C. vulgaris*) a donc été sélectionnée et a montré une accumulation de lipides dès les premières cultures.

1.1. Conditions de culture

1.1.1. *Chlorella sorokiniana*

C. sorokiniana (NIES 2173) (Figure II-1) a été cultivée dans un milieu d'eau douce supplémenté en nutriments (N, P et S) en vue de produire une biomasse à 4 g/L. La composition du milieu est la suivante : 1459 mg/L de NaNO₃, 102 mg/L de NH₄Cl, 233 mg/L de KH₂PO₄, 143 mg/l de MgSO₄, 7H₂O, 1,5 mg/L de CaCl₂, 2H₂O et de micronutriments (1 ml/L de solution Hutner [1]). Le pH a été ajusté entre 7 et 7,5 avec un flux de CO₂. Les lots 2020RAFCS0 et 2020RAFCS1 ont été cultivés en conditions normales et les lots suivants en carence d'azote afin de favoriser la production de lipides [2]. Après récolte et concentration par centrifugation, les micro-algues ont été conservées à -18 °C.

N.B. : Les décongélations successives du même lot lors de chaque essai ont pu altérer les cellules en détruisant la paroi cellulaire ou provoquer une contamination des lots.

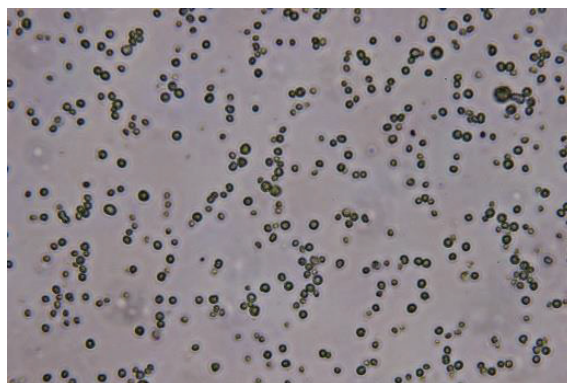


Figure II-1 : Photo microscope (x400) de *C. sorokiniana* (diamètre cellulaire entre 3 et 6 μm)

Le Tableau II-1 récapitule les conditions de culture des différents lots en incluant la date de culture, la dénomination du lot, le taux de matière sèche (MS) et de cendres (MI) ainsi que des détails concernant le photobioréacteur (PBR) utilisé pour cultiver les algues, la centrifugeuse et si oui ou non une carence en azote a été appliquée au milieu de culture. Le lot 2020RAFCS0 ne sera pas considéré dans le traitement des résultats car il a principalement servi à la mise en place des protocoles pour l'HTL ou pour les analyses.

Tableau II-1 : Détails sur la culture de *C. sorokiniana*

Date de culture	Lot	MS (%)	MI (%)	PBR	Récolte et concentration	Carence en azote
22/01/2020	2020RAFCS0	28,3	10	25L FPA*	Récolte avec la centrifugeuse « Clara 20 » (Alfa Laval) à 150 L/h et 9500G puis concentration avec une centrifugeuse Avanti J-26S XP et un rotor J-LITE JLA-8.1000 6x1L à 12000G	Non
20/02/2020	2020RAFCS1	19,3	7,3	180L FPA		Non
14/04/2020	2020RAFCS2	40,7	2,4	180L FPA		Oui
25/08/2020	2020RAFCS3	22,4	4,2	180L FPA		Oui
14/10/2020	2020RAFCS4	27,3	2,5	180L FPA		Oui

*FPA : Flat panel airlift

1.1.2. *Chlorella vulgaris*

C. vulgaris (NIES 227) (Figure II-2) a été cultivé dans un milieu d'eau douce supplémenté en nutriments (N, P et S) en vue de produire une biomasse à 4 g/L. La composition du milieu nutritif est identique à celle employée pour *C. sorokiniana*, tout comme l'ajustement de pH par flux de CO₂. La culture s'est déroulée en carence d'azote pour l'ensemble des lots afin de favoriser la production de lipides. L'influence des paramètres de culture (lumière, carence...) n'a pas été étudié sur ces cultures mais on observe que la composition des différents lots est différente selon la carence en azote, la quantité de lumière appliquée pendant la culture et selon le moment de récolte. Les micro-algues ont ensuite été conservées à -18 °C.

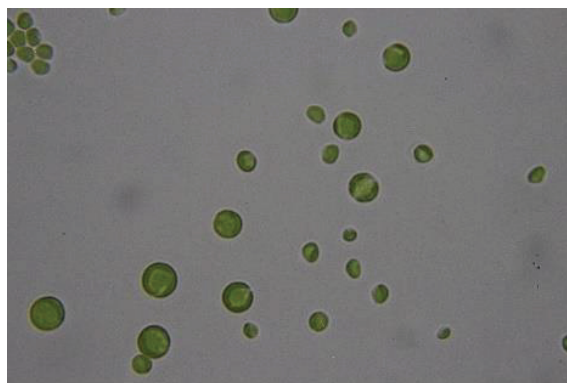


Figure II-2 : Photo microscope (x1000) de *C. vulgaris* (diamètre cellulaire entre 3 et 6 μm)

Le Tableau II-2 récapitule les conditions de culture de manière similaire au Tableau II-1. La principale différence avec la culture des lots de *C. sorokiniana* est le PBR utilisé, ici une colonne de 300 L alors que pour *C. sorokiniana* des panneaux plats de 180 L ont été utilisés.

Tableau II-2 : Détails sur la culture de *C. vulgaris*

Date de culture	Lot	MS (%)	MI (%)	PBR	Récolte	Carence en azote
22/03/2021	2021RAFCV1	27,5	3,3	Colonne de 300 L « Jumbo »	Récolte avec la centrifugeuse « Clara 20 » (Alfa Laval) à 150 L/h et 9500G puis concentration avec une centrifugeuse Avanti J-26S XP et un rotor J-LITE JLA-8.1000 6x1L à 12000G	Oui
06/06/2021	2021RAFCV2	31,8	2,8			Oui
15/06/2021	2021RAFCV3	33,6	3,3			Oui
28/07/2021	2021RAFCV4	9	5,5			Oui
27/08/2021	2021RAFCV5	26,2	5			Oui

1.2. Composition élémentaire et macromoléculaire des lots

1.2.1. Lot utilisés pour les essais en réacteur fermé (batch)

Les essais de liquéfaction hydrothermale en batch, destinés à l'optimisation des paramètres et à l'étude cinétique ont été réalisés sur les quatre lots suivants : 2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4 et 2021RAFCV2. Parmi les quatre lots utilisés, l'un est riche en protéines (2020RAFCS1), deux sont riches en carbohydrates (RAFCS3 et RAFCS4) et le dernier est riche en lipides (voir Figure II-3). Les mêmes conditions de culture ont été appliquées aux lots 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4, leur composition est alors similaire, mis à

part pour le taux de lipides plus élevé dans le cas de 2020RAFCS4 et le profil d'acides aminés (voir Figure II-5). Le bilan massique de l'analyse biochimique, soit la quantité de matière qui a pu être quantifiée en tant que lipides, protéines, carbohydrates et cendres, est entre 80 et 95 %. La composition des micro-algues étant très diversifiée, il est compliqué de caractériser l'ensemble des composés cellulaires. Les molécules correspondant aux 20 % restant sont principalement des pigments comme les chlorophylles ou caroténoïdes, les acides nucléiques, les métabolites (acides aminés, vitamines, alcools, nucléotides...) et les algaenans [3]. L'ensemble des techniques analytiques utilisées seront détaillées dans la partie 4.1.

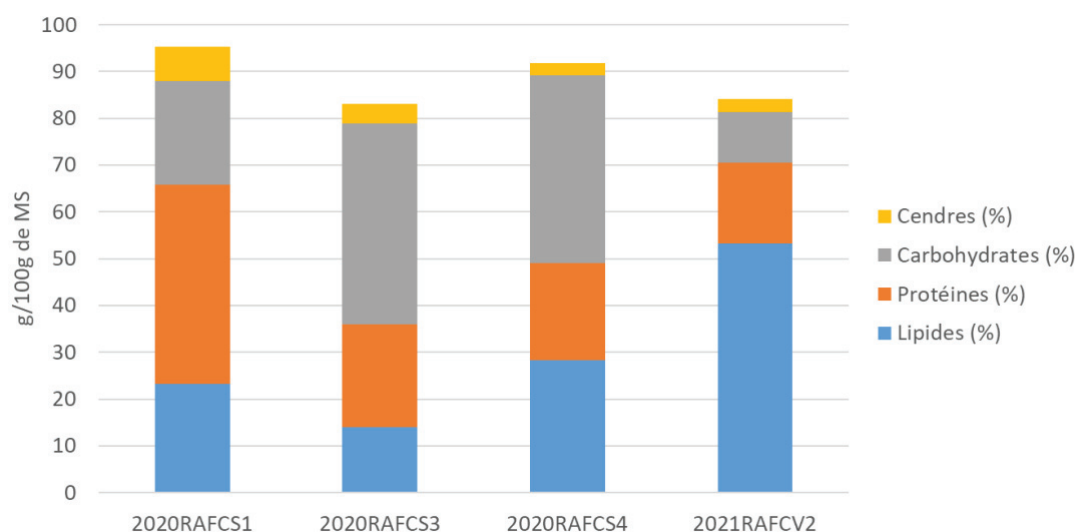


Figure II-3 : Composition macromoléculaires des lots utilisés pour les essais en batch

La composition élémentaire des différents lots, reportée en Figure II-4, diffère essentiellement par le taux d'azote, plus ou moins élevé selon si l'espèce a été carencée ou non. Il passe d'environ 8 % à 4 % en cas de carence d'azote dans le milieu de culture. De plus, on remarque que le taux de carbone de *C. vulgaris* est plus élevé que celui de *C. sorokiniana*, ce qui est lié au fait que *C. vulgaris* contient plus de lipides. L'annexe 2-A regroupe l'ensemble des analyses réalisées sur ces lots.

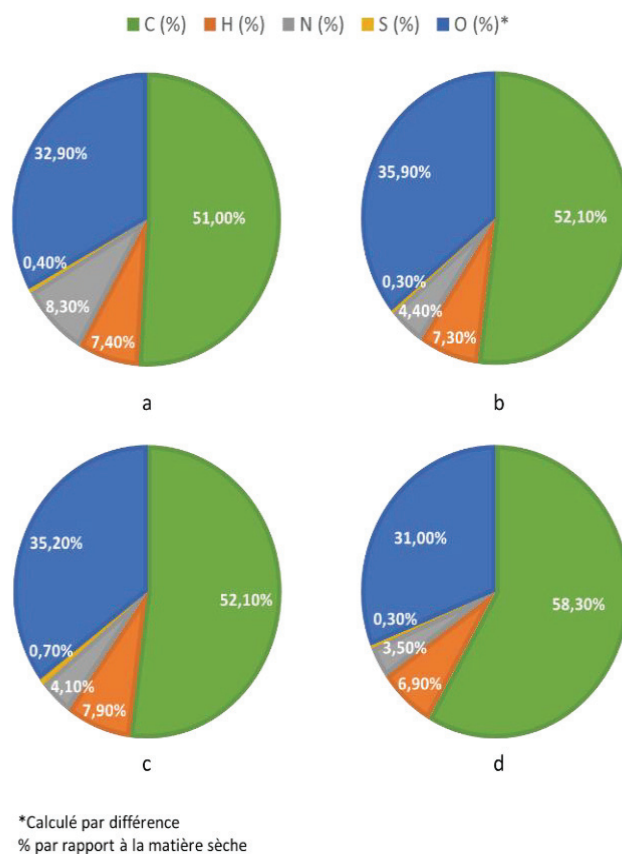


Figure II-4 : Composition élémentaire des lots 2020RAFCS1 (a), 2020RAFCS3 (b), 2020RAFCS4 (c), 2021RAFCV2 (d)

Les profils d'acides aminés de chaque lot sont reportés en Figure II-5. On remarque que les profils sont différents selon les conditions de culture et que même entre 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4, qui ont une composition similaire et qui ont été cultivés dans des conditions proches, le profil d'A.A. diffère. Cela montre une forte sensibilité des cultures à leur environnement et la difficulté à prédire leur composition. Ces profils serviront principalement à l'étude réactionnelle menée dans le Chapitre IV.

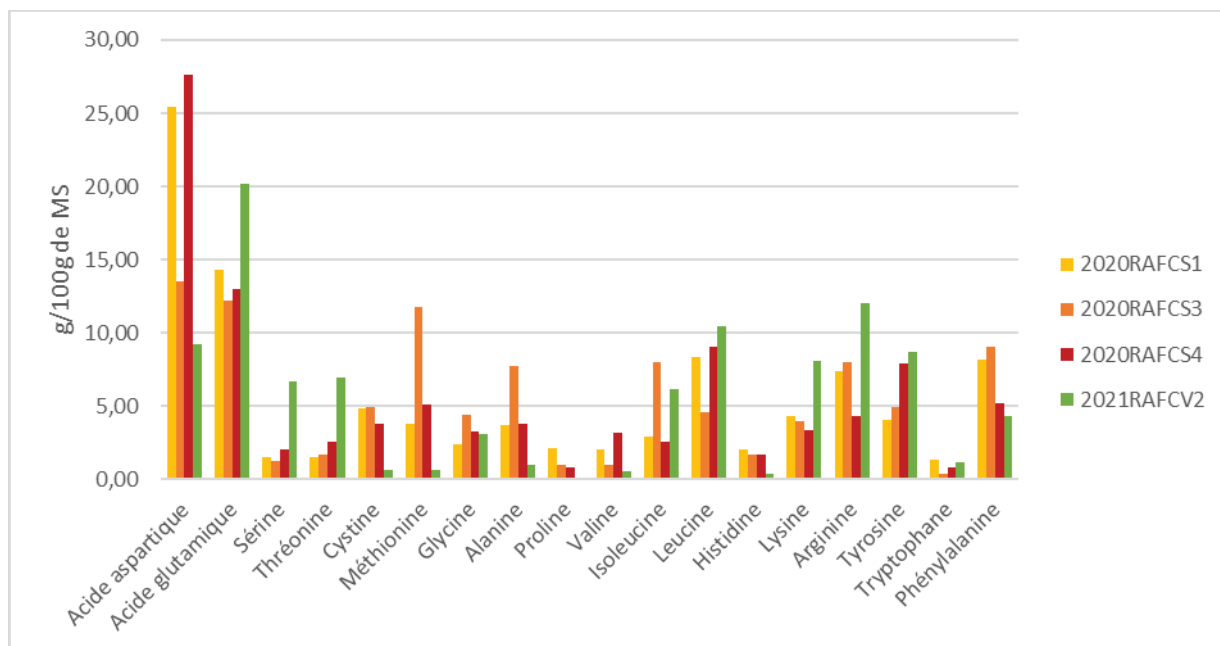


Figure II-5 : Profil d'acides aminés des lots utilisés pour les essais en batch

Les profils d'acides gras des différents lots sont reportés en Figure II-6. On remarque que les profils de 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4 sont cette fois-ci similaires. De plus, on peut noter que la carence appliquée sur *C. sorokiniana* (avec 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4) et sur *C. vulgaris* (avec 2021RAFCV2) n'induit pas la formation des mêmes acides gras. Dans le cas de *C. sorokiniana*, on trouve d'avantages de (C18 :1n-10) alors que pour *C. vulgaris*, le même acide gras sous forme saturé (C18 :0). Ces profils serviront principalement à l'étude réactionnelle menée dans le Chapitre IV.

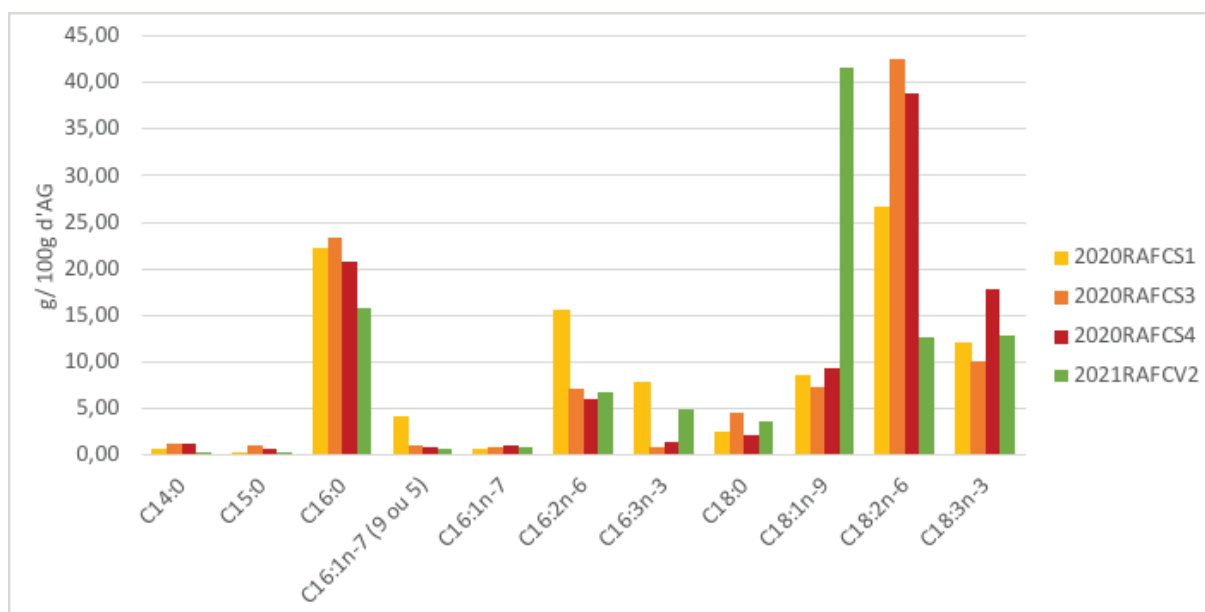


Figure II-6 : Profil d'acides gras des lots utilisés pour les essais en batch

1.2.2. Lots utilisés pour les essais continus

Les essais en continu ont été réalisés sur les cinq lots suivants : 2020RAFCS2, 2021RAFCV1, 2021RAFCV3, 2021RAFCV4 et 2021RAFCV5. Les lots de *C. vulgaris* sont riches en lipides comparé à celui de *C. sorokiniana* (Figure II-7), mis à part le lot 2021RAFCV4 qui a été récolté tardivement et qui a épuisé ses réserves en lipides. Les problématiques liées aux méthodes analytiques (partie 4.1) sont encore une fois à prendre en compte par rapport aux bilans massiques inférieurs à 100 %. L'annexe 2-A regroupe l'ensemble des analyses réalisées sur ces lots.

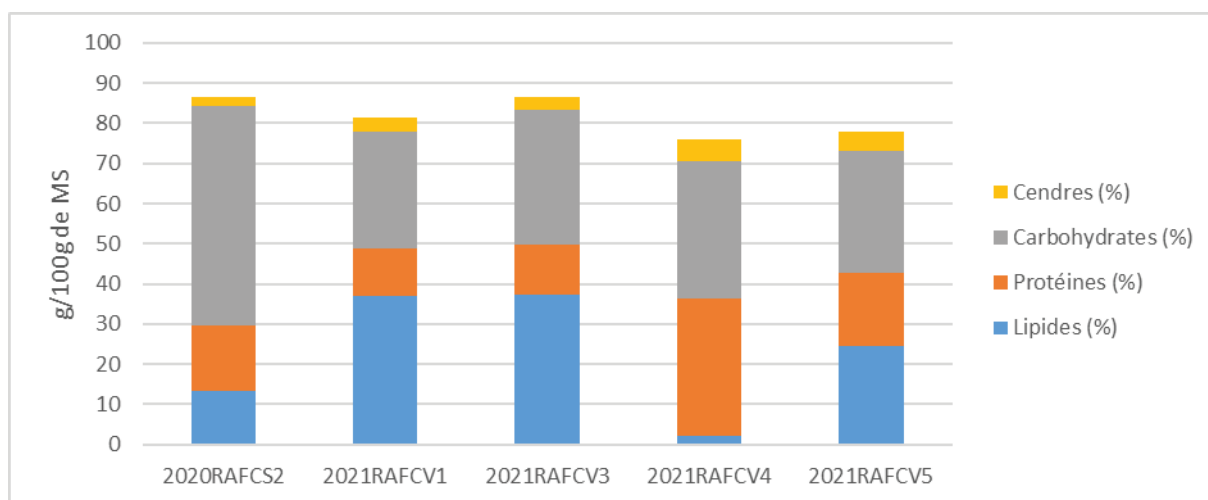


Figure II-7 : Composition macromoléculaire des lots utilisés pour les essais continus

2. Les dispositifs et méthodes expérimentales

Deux installations ont été utilisées pour réaliser les essais de liquéfaction hydrothermale, une installation batch et une en continu. Celles-ci vont être décrites dans la partie suivante en évoquant les différences en termes de protocole expérimental.

2.1. Installation de liquéfaction hydrothermale en batch : Parr

L'installation en batch, visible en Figure II-8, est composée d'un autoclave de 600 ml en acier inoxydable, d'un agitateur et d'un collier chauffant électrique.

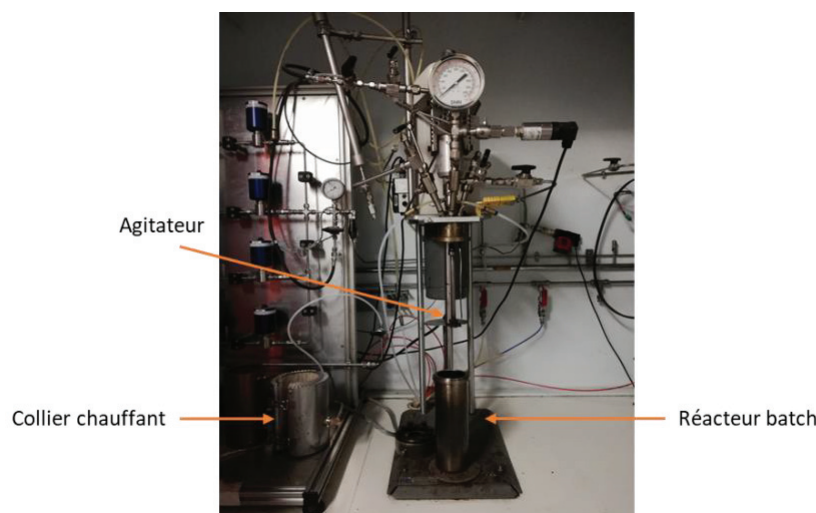


Figure II-8 : Réacteur batch (Parr Instrument Company)

2.1.1. Préparation de la biomasse et description de l'installation

La biomasse est diluée avant chaque essai dans l'eau à la concentration voulue en matière organique, ce qui permet de s'affranchir du taux de cendres différent selon les lots. Le pH du mélange est mesuré avant chaque essai. Le réacteur est ensuite monté sur l'installation visible en Figure II-8.

La réaction de liquéfaction hydrothermale se produit en absence d'oxygène, le contenu du réacteur est donc rempli d'azote et purgé 3 fois de suite. La pression initiale est fixée à environ 10 bar pour les essais réalisés à une température inférieure ou égale à 300 °C et à 8

bar lors des essais réalisés à une température supérieure à 300 °C afin de ne pas dépasser la pression maximale fixée à 170 bar. La vitesse d'agitation est fixée à environ 385 rpm.

2.1.2. Montée en température

Le mode automatique de régulation de montée en température a été utilisé pour les essais liés à l'étude paramétrique (voir partie 6). Un exemple de régulation est représenté dans la Figure II-9 en bleu. Pour les essais liés à l'étude cinétique (voir partie 6), une rampe de température de 15 °C/min a été choisie, en orange sur la Figure II-9. Afin de limiter les dépassements de température autour de la température voulue, la puissance est réglée manuellement à hauteur de 20-30 %, 5 ou 10 °C avant la température ciblée, selon le comportement de l'essai.

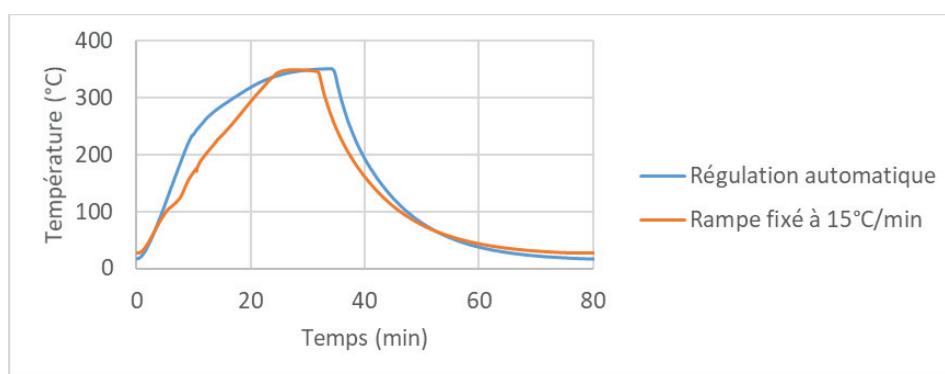


Figure II-9 : Profil de température sur le Parr en fonction du mode de régulation

2.1.3. Récupération des produits

L'étape de séparation des produits a été optimisée pour les micro-algues afin de maximiser la quantité de bio-huile récupérée et de garantir une analyse représentative de la bio-huile. La mise au point du protocole est détaillée en annexe 2-B. Finalement, le protocole suivant a été choisi pour les essais réalisés au cours de la thèse.

Comme illustré en Figure II-10, après liquéfaction, le contenu du batch constitué de biocrude (mélange de bio-huile et de char) et d'eau est séparé par un tamis de 50 µm. Le volume de phase aqueuse est pesé et une mesure du pH est effectuée. Les masses de biocrude récupérées sur le tamis, restant dans le réacteur et sur l'agitateur sont pesées et séchées sous hotte à température ambiante pendant une nuit. Après séchage, une deuxième pesée est effectuée. Environ 1 g de biocrude est ensuite mélangé avec du dichlorométhane (~150 ml) et filtré sur verre fritté et filtre (Whatman GF/C) en fibre de verre de 1,2 µm afin

d'obtenir sur le filtre, le char, et dans le solvant, la bio-huile. Le solvant est ensuite évaporé sous vide et à 40 °C afin de récupérer la bio-huile à des fins analytiques.

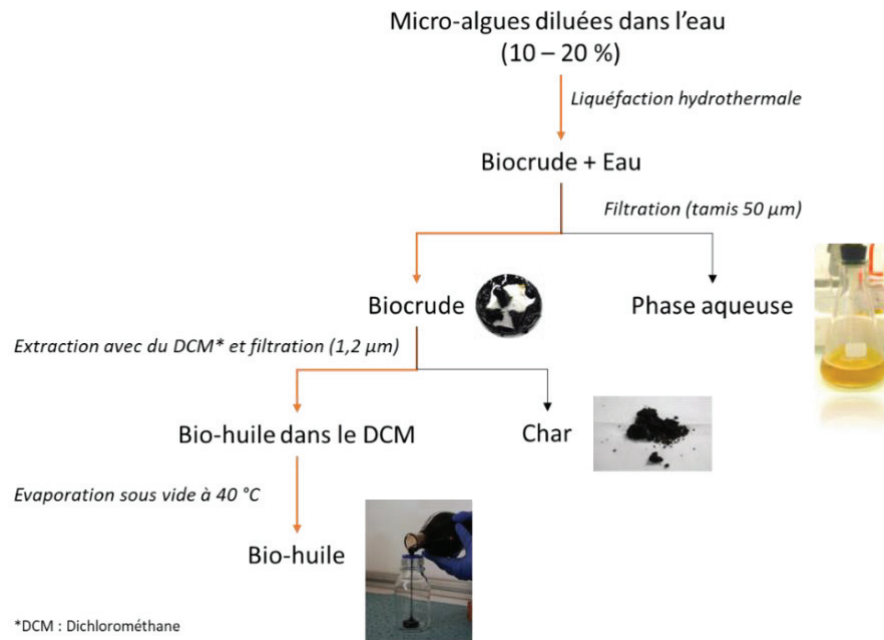


Figure II-10 : Schéma de récupération des produits issus de l'HTL de micro-algues

2.2. Installation de liquéfaction hydrothermale en continu : Hydroliq

L'installation en continu, visible en Figure II-11, se compose d'une cuve de remplissage, d'un réacteur entouré d'un collier chauffant, de pompes pistons, d'un échangeur de chaleur et d'une cuve de récupération des produits.

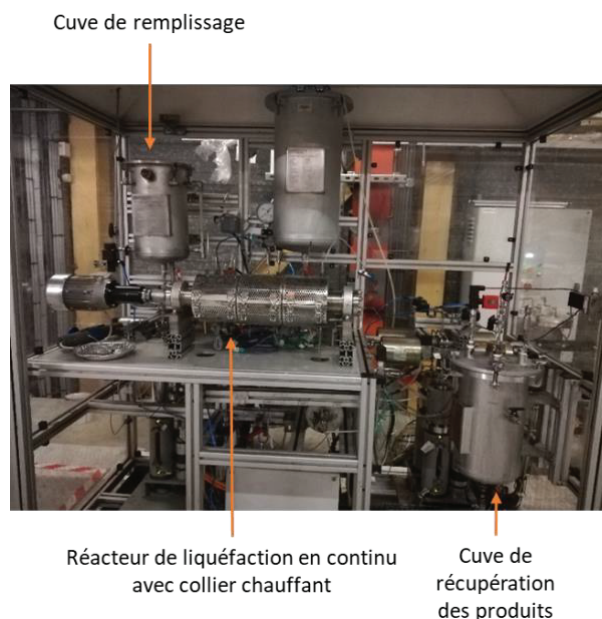


Figure II-11 : Réacteur pilote de liquéfaction hydrothermale en continu (Hydroliq)

2.2.1. Préparation de la biomasse et description de l'installation

Avant chaque test en continu, le réacteur est monté à température souhaitée en présence d'eau. La biomasse est diluée dans l'eau à la concentration voulue en matière organique et mélangée avant d'être insérée dans la cuve de remplissage (Figure II-11). Le pH du mélange est mesuré avant chaque essai. Lorsque le réacteur est à température et pression stable (entre 150 et 180 bar), le mélange est injecté dans le réacteur à l'aide d'une pompe à double piston à un débit fixé ici à 1,5 L/h. La pression est régulée par la pompe double piston située en aval du réacteur. La vitesse d'agitation de la cuve et de l'agitateur dans le réacteur est fixée à 250 rpm. Les produits sont récupérés après refroidissement et détente dans la cuve de récupération.

2.2.2. Récupération des produits

Deux tamis (de 200 et 50 μm) sont placés à l'intérieur de la cuve de récupération afin de séparer le biocrude de la phase aqueuse pendant l'essai. Le volume de phase aqueuse est pesé et une mesure du pH est effectuée. Le biocrude récupéré sur les tamis est pesé et séché sous hotte pendant une nuit. Après séchage, une deuxième pesée est effectuée. Environ 1 g de biocrude est ensuite mélangé avec du dichlorométhane (~150 ml) et filtré sur verre fritté et filtre (Whatman GF/C) en fibre de verre de 1,2 μm afin d'obtenir sur le filtre, le char, et dans le solvant, la bio-huile. Le solvant est ensuite évaporé sous vide et à 40 °C afin de récupérer la bio-huile à des fins analytiques.

2.2.3. Paramètres appliqués aux essais en continu

Les essais en continu ont été réalisés à une température de 300 °C et de 340 °C et une pression de 150 et 180 bar respectivement. Le temps de séjour, imposé par la géométrie du réacteur et le débit des pompes, est fixé à 15 min. L'augmentation de la température a imposé une modification du protocole de récupération des produits. La proportion en char étant quasiment nulle, la bio-huile est passée à travers les tamis et s'est retrouvée dans la même cuve que la phase aqueuse. Une séparation par décantation a donc été effectuée en récupérant tout d'abord la phase aqueuse puis la bio-huile.

3. Exploitation des essais

Cette partie décrit le calcul des rendements des différents produits ainsi que le calcul du bilan carbone et massique effectué pour chaque essai.

3.1. Calcul des rendements des produits

Dans le chapitre III, les rendements ont été calculés par rapport au taux de matière organique (MO) (sans les cendres) insérée dans le réacteur. Pour le traitement des résultats par modélisation, les rendements ont été exprimés par rapport au taux de matière sèche.

3.1.1. Rendement en biocrude

Le rendement en biocrude est calculé en prenant en compte l'humidité après séchage une nuit sous hotte (mesure de l'humidité détaillée en partie 4.2), on se base donc sur l'équation suivante :

$$Y_{\text{biocrude}} = \frac{m_{\text{biocrude humide}} * (1 - \% \text{humidité})}{m_{\text{biomasse}}} = \frac{m_{\text{biocrude sec}}}{m_{\text{biomasse}}} \quad (2. 1)$$

3.1.2. Rendement en bio-huile et char

Le pourcentage de char dans le biocrude est déduit par la pesée du char restant sur le filtre (m_{char}), tel que décrit en partie 2.1.3., et la masse de biocrude sec extraite (prenant en compte l'humidité). Par différence, on déduit la quantité de bio-huile dans le biocrude. Les équations (2. 2) et (2. 3) regroupent ces calculs.

$$\% \text{char} = \frac{m_{\text{char}}}{m_{\text{biocrude sec extraite}}} \quad (2. 2)$$

$$\% \text{huile} = 1 - \% \text{char} \quad (2. 3)$$

Les rendements en bio-huile ($Y_{\text{bio-huile}}$) et en char (Y_{char}) sont calculés en prenant en compte le rendement d'extraction de la bio-huile (%huile) et du char (%char), respectivement. On se base donc sur les équations (2. 4) et (2. 5) pour le calcul des rendements.

$$Y_{\text{bio-huile}} = \frac{\% \text{huile} * m_{\text{biocrude sec}}}{m_{\text{biomasse}}} \quad (2. 4)$$

$$Y_{\text{char}} = \frac{\% \text{char} * m_{\text{biocrude sec}}}{m_{\text{biomasse}}} \quad (2. 5)$$

3.1.3. Rendement en gaz en réacteur batch

Une moyenne de trois séries de mesures homogènes est prise en compte dans le calcul du rendement en gaz. Le pourcentage moyen de chaque espèce est alors calculé (CO₂, H₂, O₂, N₂, CO, CH₄) en fixant un bilan à 100 %. L'outil d'analyse employé est décrit dans la partie 4.3.

Le nombre de moles d'azote initial, $n(N_2)_i$, inséré dans le réacteur est alors calculé à l'aide de la formule des gaz parfaits décrite en équation (2. 6).

$$n(N_2)_i = \frac{P_i * V}{R * T_i} \quad (2. 6)$$

P_i : pression initiale avant la réaction (Pa)

V : volume disponible dans le réacteur (en fonction du volume de biomasse inséré) (m³),

R : constante des gaz parfait (8,314)

T_i : température initiale (K)

Le nombre de moles en CO₂, H₂, O₂, N₂, CO, CH₄ est alors déduit à partir du pourcentage en azote en fin de réaction correspondant au nombre de moles initialement présent dans le réacteur. L'exemple du CO₂ est donné en équation (2. 7). Le nombre de moles total de gaz (n_{tot}) peut alors être calculé en effectuant la somme des nombres de moles de gaz.

$$n(CO_2) = \frac{\%CO_2 * n(N_2)_i}{\%N_2} \quad (2. 7)$$

On ajoute à cela la masse de CO₂ dissous en phase aqueuse lors de la réaction en considérant la pression finale et suivant la constante de Henry (variable en fonction de la température après refroidissement, voir Tableau II-3). Le CO étant présent en très faible quantité dans le gaz, sa concentration dans l'eau est considérée comme négligeable.

Tableau II-3 : Valeur de la constante de Henry en fonction de la température

Constante de Henry (bar)	Température (°C)
1640	25
1420	20
1220	15

L'équation (2. 8) suit la loi de Henry et permet de calculer la masse de CO₂ dissous dans l'eau.

$$m(\text{CO}_2)_{\text{dissous}} = n(\text{CO}_2)_{\text{dissous}} * M_{\text{CO}_2} = \frac{P_{\text{tot}} * n_{\text{tot}}}{K} \quad (2. 8)$$

M_{CO₂} : masse molaire du CO₂ (g/mol)

P_{tot} : pression finale dans le réacteur après refroidissement et avant analyse (bar)

n_{tot} : nombre de moles total de gaz (mol)

K : constante de Henry (bar)

La masse de gaz totale à température et pression ambiante et prenant en compte le CO₂ dissout dans l'eau est alors calculée selon l'équation (2. 9).

$$m_{\text{gaz total}} = n(\text{H}_2) * M(\text{H}_2) + n(\text{CH}_4) * M(\text{CH}_4) + n(\text{CO}) * M(\text{CO}) \\ + n(\text{CO}_2) * M(\text{CO}_2) + m(\text{CO}_2)_{\text{dissous}} \quad (2. 9)$$

Finalement le rendement en gaz en réacteur batch est exprimé selon l'équation (2. 10).

$$Y_{\text{gaz}} = \frac{m_{\text{gaz total}}}{m_{\text{biomasse}}} \quad (2. 10)$$

3.1.4. Rendement du gaz en réacteur continu

Deux séries de mesures (A et B) de pression sont réalisées pendant l'essai en continu. Une série de mesure correspond à la mesure de pression dans la cuve de récupération des produits à deux temps (x = 1 ou 2) différents.

Les volumes de gaz produits sont calculés en considérant le volume de la cuve constant égal à 15 L (0,015 m³) et selon l'équation (2. 11).

$$V_{x,\text{gaz}} = V_{\text{cuve}} - V_{\text{biomasse}} = V_{\text{cuve}} - Q_{\text{biomasse}} * t_{\text{inj}} \quad (2. 11)$$

$V_{x,\text{gaz}}$: volume de gaz produit (avec $x = 1$ ou 2) (L)

Q_{biomasse} : débit de biomasse (fixé à 1,5 L/h)

t_{inj} : temps d'injection à partir du début de l'essai (h)

Le nombre de moles créé pendant la mesure au temps x est alors égal à :

$$n_x = \frac{P_x * V_{x,\text{gaz}}}{R * T} \quad (2. 12)$$

n_x : nombre de moles ($x=1$ ou 2) (mol)

P_x : pression de la cuve ($x=1$ ou 2) (bar)

R : constante des gaz parfait (8,314)

T : température de la cuve (K)

V_x : volume de gaz produit ($x=1$ ou 2) (m^3)

Le nombre de moles créé entre $x=1$ et $x=2$ suit alors l'équation (2. 13).

$$n = \frac{n_2 - n_1}{\frac{t_2 - t_1}{60}} \quad (2. 13)$$

t_x : temps de mesure ($x= 1$ ou 2) (min)

n : nombre de moles créées pendant l'intervalle de mesure (moles/h)

On fait ensuite la moyenne du nombre de moles de gaz produites par heure (n_{moy}) des deux séries de mesures (A et B) et le nombre total de moles de gaz produites durant l'essai (n_{total}) est calculé selon l'équation (2. 14).

$$n_{\text{total}} = n_{\text{moy}} * t_{\text{essai}} \quad (2. 14)$$

t_{essai} : durée de l'essai (h)

En fonction du pourcentage en CO_2 , H_2 , CO , CH_4 donné par l'analyse par μGC (décrite en partie 4.3) et avec la masse molaire correspondante, on en déduit la quantité de gaz produit

(en g) durant l'essai. Le rendement massique est exprimé de la même manière qu'en batch, selon l'équation (2. 10).

3.2. Bilan massique et carbone

Le calcul des bilans massique et carbone permet d'évaluer la précision des essais.

3.2.1. Bilan massique

Le bilan massique permet de se rendre compte de la quantité de matière récupérée par rapport à la quantité insérée au départ dans le réacteur. Il est calculé selon l'équation (2. 15). On considère la masse de char et de bio-huile obtenue suite à l'extraction décrite en partie 2.1.3, la masse de gaz calculé grâce aux analyses par μ GC et la masse de phase aqueuse récupérée après filtration et évaporée pendant une nuit sous hotte. Finalement le bilan s'effectue par rapport à la quantité de biomasse insérée dans le réacteur et diluée dans l'eau. Les bilans massiques obtenus en réacteur fermé sont compris entre 95 et 100 % et ceux obtenus pour les essais continus sont compris entre 91 et 100 % (voir annexe 3-A et 5-D)

$$\text{Bilan massique} = \frac{m_{\text{char}} + m_{\text{bio-huile}} + m_{\text{phase aqueuse}} + m_{\text{gaz}}}{m_{\text{biomasse+eau}}} \quad (2. 15)$$

3.2.2. Bilan carbone

Le bilan carbone permet d'évaluer la quantité de carbone perdue durant les essais. Sachant que celle-ci dépend aussi de la précision des analyses. La masse de carbone dans la bio-huile, le char et la phase aqueuse a été mesurée grâce aux analyses par CHNS décrites en partie 4.1.3. La masse de carbone dans le gaz ($m_{\text{c(gaz)}}$) a été évaluée en prenant en compte les moles de gaz produites pendant la réaction et la masse molaire du carbone ($M(\text{C}) = 12 \text{ g/mol}$), selon l'équation (2. 16).

$$m_{\text{c(gaz)}} = M(\text{C}) * (n(\text{CH}_4) + n(\text{CO}) + n(\text{CO}_2) + n(\text{CO}_2)_{\text{dissous}}) \quad (2. 16)$$

Finalement, le bilan carbone est exprimé par l'équation (2. 17). Les bilans carbonés obtenus en réacteur fermé sont compris entre 70 et 135 % et ceux obtenus pour les essais continus sont égaux compris entre 68 et 103 % (voir annexe 3-A et 5-D)

$$\text{Bilan carbone} = \frac{m_{c(\text{bio-huile})} + m_{c(\text{char})} + m_{c(\text{phase aqueuse})} + m_{c(\text{gaz})}}{m_{c(\text{biomasse})}} \quad (2. 17)$$

4. Méthodes analytiques

Les analyses, que ce soit de la biomasse ou des produits, ont nécessité une attention particulière. Ce point a fixé le niveau de détails pouvant être apporté au schéma réactionnel présenté en Chapitre IV. Il est à noter que les laboratoires d'analyse n'utilisent pas toujours les mêmes méthodes pour la caractérisation des biomasses, c'est pourquoi des protocoles ont dû être développés en interne. Tout comme la plupart des méthodes analytiques sur les produits.

4.1. Analyse de la biomasse algale

La caractérisation des lots de micro-algues a été réalisée de manière à avoir la proportion en protéines, carbohydrates et lipides. Le taux de matière sèche et de cendres a également été déterminé sur l'ensemble des lots, tout comme l'analyse élémentaire de la biomasse sèche.

4.1.1. *Mesure du taux de matière sèche et de cendres*

La mesure du taux de matière sèche a été effectuée sur ~5 g de biomasse humide par mesure de la différence de masse avant et après séchage sous étuve à 105 °C pendant 24 h. Ces mêmes échantillons ont ensuite été mis au four à 550 °C afin de déterminer le taux de cendres par perte de masse. Ces mesures ont été réalisées en triplicat.

4.1.2. *Mesure de pH*

La mesure de pH de la biomasse diluée dans l'eau est effectuée avant la réaction à l'aide du pH-mètre pHenomenal 1100L muni d'une sonde pHenomenal 221.

4.1.3. Analyse élémentaire par CHNS

Après séchage de la biomasse, une mesure du taux de carbone, hydrogène, azote et soufre a été effectuée sur les différents lots à l'aide de l'appareil Vario El Cube (Elementar). Le principe de cette analyse repose sur la quantification des gaz après combustion de la biomasse tels que le CO₂, la vapeur d'eau, les oxydes d'azotes et de soufre associé au carbone, hydrogène azote et soufre respectivement. Le taux d'oxygène est donc déduit par différence.

4.1.4. Extraction des lipides et profil des acides gras

La diversité des lipides en terme de structure et propriétés chimiques (polaire, apolaire, pigments) mène à des difficultés lors de l'extraction. Celle-ci peut être incomplète ou sélective à certains lipides selon le solvant et la méthode utilisée [3,4]. La méthode de quantification gravimétrique a été choisie pour quantifier les lipides des lots de *C. sorokiniana* et la méthode de quantification des FAMES (Esters d'acides gras) a été choisie pour *C. vulgaris*. Cette dernière est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) après extraction et méthylation des acides gras. Cette méthode ne prend donc pas en compte les lipides insaponifiables comme les stérols, les cérides ou les pigments [3]. La quantification gravimétrique consiste à extraire les lipides après lavage de la biomasse et lyophilisation. Environ 10 à 20 mg de biomasse sont extraits par un mélange chloroforme/méthanol (2 :1). La biomasse est extraite par le solvant pendant 10 min dans un bain à ultrason puis mélangée par vortex. 1 ml de solution de NaCl (0,73 %) sont ensuite ajoutés au mélange puis celui-ci est centrifugé. La phase hydrophobe (extrait lipidique) est récupérée et une deuxième extraction au chloroforme est réalisée sur la partie non extraite. Le pourcentage de lipides est alors la différence entre la masse initiale de biomasse et la masse après évaporation du solvant. Ces analyses ont été réalisées par le CEA de Cadarache.

Le dosage des FAMES a également été réalisé par le CEA de Cadarache et le profil des acides gras par l'IRIG (Institut de Recherche Interdisciplinaire de Grenoble) aux vues de leurs compétences et connaissances dans ce domaine, une méthode similaire a cependant été choisie. L'extraction des lipides est réalisée sur des échantillons de micro-algues lyophilisés et broyés. Quatre millilitres d'éthanol bouillant sont ajoutés aux micro-algues. Après incubation pendant 5 min à 85 °C, 2 ml de méthanol et 8 ml de chloroforme sont ajoutés. Une heure d'incubation est alors nécessaire à l'extraction. Le mélange est ensuite filtré avec de la laine de verre et 3 ml de chloroforme (hexane pour le CEA de Cadarache) puis 5ml d'une solution à 1 % de chlorure de sodium sont ajoutés au filtrat. Finalement, les lipides sont récupérés après centrifugation et évaporation du solvant.

L'analyse des lipides pour le profil des acides gras est ensuite réalisée par l'appareil GC de marque Agilent 7890B couplé à un détecteur à ionisation de flamme avec une colonne SGE BPX70 de 60 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film et un standard d'acide gras à 21 carbones (C21). Pour la quantification des lipides, l'appareil GC de marque Shimadzu GC2010 Pro couplé à un détecteur à ionisation de flamme avec une colonne ID FAMEWAX de 30m de longueur, 0,32 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film et un standard d'acides gras à 15 carbones (C15) ont été utilisés.

4.1.5. Calcul du taux de protéines

Le calcul du taux de protéines est classiquement calculé avec le taux d'azote (dosé par la méthode Kjeldahl) auquel on applique un facteur de conversion, égal à 6,25, et représentant la proportion d'azote dans une protéine. Ici, la méthode Kjeldahl a pu être appliquée à une quantité limitée d'échantillons, nous avons donc choisi le taux d'azote mesurée par combustion (CHNS) sur tous les échantillons secs [5]. Concernant le facteur de conversion, il est dépendant de l'espèce d'algue considérée et n'est pas égal à 6,25 (valeur classiquement appliquée aux résidus alimentaires) dans le cas des micro-algues compte tenu de la répartition non protéique de l'azote. Les composants non protéiques sont par exemple les acides nucléiques, la chlorophylle, les lipides, les métabolites ou les composés inorganiques présents dans le milieu de culture. Des facteurs entre 4,78 et 4,97 ont été calculé sur différentes espèces. Afin d'uniformiser les résultats, un facteur égal à 5 a été choisi pour *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*. La formule (2. 18) a donc été appliquée au calcul du taux de protéines :

$$\text{Taux de protéines} = \%N (\text{mesure CHNS}) * 5 \quad (2. 18)$$

L'idéal étant de calculer le facteur de conversion pour chaque espèce en connaissant précisément la quantité d'acides aminés présents dans la cellule [3]. Les analyses sous traitées au *Laboratoire Développement Méditerranée* nous informent seulement de la répartition des différents acides aminés.

4.1.6. Analyses sous-traitées (sucres totaux et aminogramme)

Les monomères de sucres étant très variables et assemblés sous forme de polymères (cellulose et hémicellulose) ou avec les lipides ou protéines, on considère souvent leur quantification comme : 100 % - (cendres + protéines + lipides), ce qui n'est finalement pas correct vis-à-vis du bilan masse < 100 % obtenu après dosage des sucres totaux [3]. Le dosage des sucres totaux a été réalisé par le CEA de Cadarache (3MicroAlgae Processes

Platform) par la méthode colorimétrique de Dubois utilisant comme réactif le phénol et l'acide sulfurique [6].

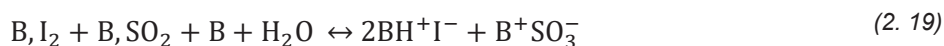
Ces analyses permettent de décrire la biomasse de manière macromoléculaire, la plupart des études de liquéfaction hydrothermale de micro-algues ne considère que ces trois constituants. Le profil des acides aminés a donc été réalisé par le *Laboratoire Développement Méditerranée* afin de pouvoir avoir un niveau de détail supplémentaire concernant les protéines. Le dosage est réalisé selon la méthode ISO 13903 à l'aide d'une chromatographie liquide à haute performance et seule la proportion des différents acides aminés est donnée par rapport au taux de protéines total.

Cette partie a regroupé l'ensemble des analyses réalisées sur les micro-algues. Cependant, comme observé en Figure II-3 et Figure II-7, on remarque que la totalité de l'algue ne peut être caractérisée, on atteint des bilans entre 60 et 90 % après mesure du taux de protéines, lipides, carbohydrates et cendres. Cette problématique est souvent rencontrée dans la littérature. Il y a donc une partie non négligeable (~20 %) de la composition des micro-algues qui n'est ni dosée, ni identifiée [3]. Une autre difficulté, associée à l'analyse de la biomasse, est la variabilité de la composition due à l'environnement, au moment de croissance auquel l'algue a été analysée et à l'espèce sélectionnée.

4.2. Analyse du biocrude : mesure de l'humidité par Karl Fisher

Après séchage sous hotte, le taux d'humidité du biocrude est mesurée par la méthode Karl Fisher à l'aide d'un Titroline KF (Schott). Un réactif composite (Hydranal, Composite 1) composé de dioxyde de soufre, de diiode, d'imidazole en solution dans du 2-(2-éthoxy)éthanol et un solvant (mélange composé de méthanol, de dioxyde soufre et d'imidazole) sont utilisés pour le titrage. Le biocrude est dilué à hauteur de 5 % dans de l'isopropanol (IPA) pour l'analyse.

Ce biocrude dilué est injecté dans le solvant et le titrage démarre en présence du réactif contenant du diiode. L'imidazole (B) neutralise les produits acides formés et le méthanol (ROH) participe à la réaction comme présenté ci-dessous par les équations (2. 19) et (2. 20).



Finalement, la réaction de titrage est celle décrit en équation (2. 21), on dose alors l'excès de diiode n'ayant pas réagi avec l'eau par potentiométrie.



4.3. Analyse du gaz

L'analyse du gaz est réalisée par micro-GC. L'appareil Varian 4900 (Agilent) contient quatre modules : un tamis 5A (10 m) sous Helium, un tamis 5A (10 m) sous Argon, un PPU (8 m) sous Helium et un Wax sous Helium. Cet appareil est équipé d'un détecteur de conductivité thermique (TCD). Il a été utilisé pour les essais liés à l'étude paramétrique (voir partie 6). Toutes les mesures liées à l'étude cinétique (voir partie 6) ont été réalisées sur l'appareil Fusion Inficon (Chemlys) équipé d'un détecteur TCD et disposant de 4 colonnes : tamis MS5A (10 m), tamis MS5A (20 m) non utilisée, RTU (8 m) et Stabilwax (10 m).

Les composés suivants ont été quantifiés : CO₂, H₂, O₂, N₂, CO, CH₄. L'absence de détection d'oxygène permet de vérifier que les lignes de transfert pour l'analyse du gaz ont bien été purgées.

4.4. Analyse du char : analyse élémentaire par CHNS

L'analyse élémentaire est réalisée de la même manière que pour la biomasse (voir partie 4.1.3).

4.5. Analyse de la bio-huile

La complexité du mélange moléculaire dans la bio-huile implique une combinaison d'analyses. Les méthodes analytiques spécifiques à la bio-huile vont donc être décrites ci-dessous.

4.5.1. **Chromatographie par perméation de gel ou Chromatographie d'exclusion stérique (GPC-SEC)**

Cette analyse permet de déterminer la masse moléculaire moyenne d'un échantillon en masse (M_w) et en nombre (M_n). L'appareil de GPC-SEC (OMNISEC) utilisé est de la marque Malvern Panalytical avec un détecteur UV (Ultraviolet) et RI (Refraction Index). Les colonnes (T4000, T2500 et T1000) sont composées de copolymères de styrène divinylbenzène poreux, la combinaison de trois colonnes permet de séparer différentes tailles de molécules. Les bio-huiles sont diluées à hauteur de 10 % dans le THF et filtrées par un filtre-seringue de 45 μm (en PTFE) et le débit en THF est fixé à 1 ml/min pendant l'analyse. Les constituants de l'échantillon sont alors séparés en fonction de la masse moléculaire, les molécules à haut poids moléculaire sont éluées rapidement contrairement aux petites molécules qui sont retenues dans les pores le long de la colonne (Figure II-12). Une calibration couvrant la gamme 162 - 400000 Da a été réalisée avec des standards de polystyrène, on exprimera donc la masse molaire de nos échantillons en dalton (Da) équivalent polystyrène.

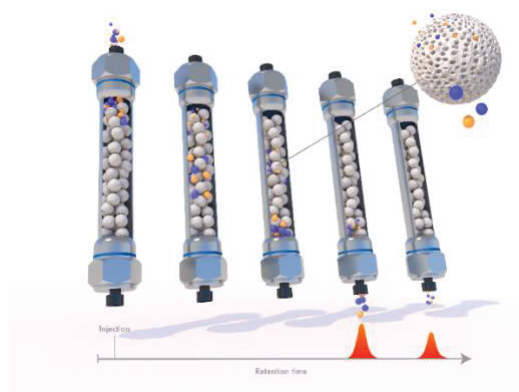


Figure II-12 : Illustration de la chromatographie par exclusion stérique

4.5.2. **Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)**

La GC-MS est la méthode analytique la plus utilisée pour caractériser les bio-huiles. Cette méthode analytique permet de séparer les composés volatilisables présents dans la bio-huile, on peut détecter des hydrocarbures, des alcools, des composés cycliques oxygénés, des acides gras, des dérivés d'acides gras, des composés organiques azotés ou oxygénés et des petits acides organiques. Le choix de la colonne (phase stationnaire, épaisseur du film, diamètre interne, longueur) et du programme de température vont guider la séparation des

molécules. Les programmes de montée en température diffèrent selon les méthodes [7–13]. Une optimisation de la rampe de température et de la concentration en échantillon est nécessaire afin d'obtenir une bonne séparation des pics et une bonne identification. L'optimisation de la méthode de séparation est détaillée en annexe 2-B.

L'analyse est réalisée sur une GC (Clarus 500 Perkin Elmer) et une colonne capillaire DB-1701 (14 % cyanopropylphényl, 86 % diméthylpolysiloxane) avec une longueur de 60 m, un diamètre interne de 0,25 mm, une épaisseur de film de 0,25 µm et une température max de 280 °C. Cette colonne est moyennement polaire. Elle analyse donc une large gamme de structure chimique et est intéressante pour avoir une idée globale de la composition. Les bio-huiles sont diluées à hauteur de 5 % en masse dans l'acétate d'éthyle puis filtrée avec des filtres de 20 µm avant injection. La température est fixée à 45 °C en début d'analyse pendant 2 min, une rampe de température de 5 °C/min est appliquée jusqu'à 180 °C et après un palier de 5 min, une seconde rampe de 2 °C/min est appliquée pour atteindre la température finale de 250 °C pendant 25 min. On applique ensuite une ionisation positive à 70 eV et une détection de masse entre 28 et 300 m/z. Les masses sont scannées pendant 0,3 s toutes les 0,05 s.

L'identification des molécules a été réalisée à partir du spectre de masse et à l'aide de la bibliothèque NIST (MS Search 2.0). Chaque pic a été identifié individuellement en comparant le spectre associé avec la bibliothèque et la validité de l'identification a été évaluée en se basant sur les molécules théoriquement présentes dans le mélange et en étudiant les fragments associés à l'ionisation des molécules. De plus, la bibliothèque fournit des valeurs de *Match* ou *Reverse Match* correspondant respectivement à la comparaison du spectre de l'échantillon et de celui de la base de données et à la comparaison du spectre de l'échantillon et de celui de la base de données sans prendre en compte les ions de l'échantillon qui n'apparaissent pas dans le spectre de la base de données. Ces valeurs vont de 0 à 999 et plus elles sont élevées, meilleure est l'identification.

4.5.3. Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions couplée à un spectromètre de masse (GC*GC-MS)

Les analyses ont été réalisées, à IRCELYON, sur une GC (Agilent 6890 GC, 5975B MS) équipée d'un modulateur cryogénique ZOEX avec une période de modulation de 11,6 s. La chromatographie gazeuse à deux dimensions permet de combiner la séparation issue de deux colonnes. La première colonne, VF-1701-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), composée de 14 % de cyanopropylphényl et 86 % de diméthylpolysiloxane (identique à la DB-1701 et ZB-1701) et la deuxième DB-1 (3 m x 0,1 mm x 0,1 µm), composée à 100 % de diméthylpolysiloxane, très apolaire. Pour la première séparation, une température initiale de 50 °C et finale de 300

°C est fixée et pour la deuxième séparation, une température initiale de 50 °C et finale de 307 °C est fixée, avec une rampe de température de 1,75 °C/min et de 1,80 °C/min, respectivement.

Cette analyse a été complétée par une analyse GC*GC-FID (décrite dans la partie 4.5.4), à des fins de quantification. Une solution d'étalonnage interne est donc préparée avant dilution et injection des bio-huiles. Le 3,3-diméthylbiphenyl est choisi en tant qu'étalon interne. Une solution à 2000 ppm d'étalon interne dans le THF est préparée par pesée puis diluée pour atteindre une concentration de 200 ppm. C'est cette dernière solution qui servira à diluer les bio-huiles à hauteur de 5 % en masse. Finalement, les bio-huiles sont injectées à un volume de 1 µL, à une température de 280 °C et un split de 100 : 1.

L'identification des molécules a été réalisée à l'aide de la bibliothèque NIST (2017) et du spectre de masse. Chaque pic a été identifié individuellement en comparant le spectre associé avec la bibliothèque et la validité de l'identification a été évaluée en se basant sur les molécules théoriquement présentes dans le mélange, en étudiant les fragments associés à l'ionisation des molécules et en se fiant à la valeur *Match* et *Reverse Match*.

4.5.4. Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC*GC-FID)

Les analyses ont été réalisées sur une GC (Agilent 7890A, G3486A CFT) équipée d'un modulateur de flux avec une période de modulation de 6,5 s. La chromatographie gazeuse à deux dimensions permet de combiner la séparation issue de deux colonnes. La première colonne, ZB-1701 (15 m x 0,10 mm x 0,05 µm), composée de 14 % de cyanopropylphényl et 86 % de diméthylpolysiloxane (identique à la DB-1701), est une colonne de polarité moyenne et la deuxième DB-1 (5 m x 0,25 mm x 0,25 µm), composée à 100 % de diméthylpolysiloxane est apolaire. Pour la première séparation, une température initiale de 50 °C et finale de 300 °C est fixée et pour la deuxième séparation, une température initiale de 60 °C et finale de 312 °C est fixée, toutes deux avec une rampe de température de 2,5 °C/min. Le détecteur à ionisation de flamme (FID) est couramment utilisé car il donne une réponse linéaire en fonction de la concentration, ce qui est adapté à la quantification des composés. Avec ce détecteur, les composés sortant de la colonne sont envoyés à l'aide d'un gaz vecteur sur une flamme d'hydrogène. Cela mène à la formation d'ions résultant en un signal électrique qui pourra être enregistré [14].

Les échantillons analysés sont identiques à ceux ayant été analysés par GC*GC-MS, la préparation des échantillons a donc été détaillée dans la partie précédente. Les bio-huiles sont ensuite injectées à un volume de 1 µL, à une température de 300 °C et un split de 50 : 1.

Les analyses GC*GC-MS et GC*GC-FID ont été réalisées parallèlement afin de pouvoir établir un lien entre les deux chromatogrammes et identifier à l'aide de la spectrométrie de masse les molécules quantifiables par GC*GC-FID.

Deux méthodes de quantification ont été appliquées, la méthode ECN et l'étalonnage de molécules cibles. La méthode du nombre de carbone effectif ou ECN (*Effective Carbon Number*) est adaptée à la détection par ionisation de flamme. Un ECN est associé à chaque molécule et calculé par rapport au nombre de carbone et aux fonctions chimiques. Cette méthode est efficace principalement sur les hydrocarbures, elle a donc été appliquée aux composés présentés dans le Tableau II-4.

Tableau II-4 : ECN des composés dosés avec cette méthode, basé sur les valeurs de Scanlon et al. [15]

Molécule	ECN
Hexadécène,3,7,11,15-tétraméthyl-	1,08
2-Hexadécèn-1-ol,3,7,11,15-tétraméthyl-	1,18

On peut ensuite déterminer le facteur de réponse (*Relative Response Factor* ou RRF) à l'aide de la masse molaire du composé à quantifier (x) et de l'étalon interne (EI) qui est ici le 3,3-diméthylbiphényl selon la formule suivante :

$$RRF = \frac{MW_x * ECN_{EI}}{MW_{EI} * ECN_x} \quad (2. 22)$$

La concentration du composé (C_x) dans l'échantillon est ensuite calculée par rapport à l'aire du pic de l'étalon interne (A_{EI}) selon la formule suivante :

$$C_x = \frac{RRF * A_x * C_{EI}}{A_{EI}} \quad (2. 23)$$

Certaines molécules oxygénées ou azotées n'ont pas de valeurs d'ECN référencées, un étalonnage est alors nécessaire. Cette étape permet également de vérifier l'identification des

molécules. Les molécules présentées dans le Tableau II-5 ont été sélectionnées pour représenter les différentes familles moléculaires (voir annexe 2-F) détectées par GC*GC-MS et étudier leur comportement dans le Chapitre IV et Chapitre V. Les équations obtenues suite à l'étalonnage sont exposées dans le Tableau II-5 et les courbes d'étalonnage correspondantes dans l'annexe 2-D.

Tableau II-5 : Equations reliées à l'étalonnage de molécules cibles

Famille moléculaire	Molécule représentative	Equation (avec x : volume du pic et y : concentration de la molécule en ppm)	Gamme d'étalonnage
Cyclopentenones/ cyclopentanones	1,2-cyclopentanedione, 3-méthyl	$y = 0,0758 x + 180,12$	220-1000 ppm
	3-hydroxy-3-méthyl-2-cyclopenten-1-one	$y = 11,922 x - 1690,9$	300-980 ppm
Pyrrolidines et quinolones	3-méthylquinoline	$y = 0,0444 x + 57,478$	290-900 ppm
Indoles/Indolizines	Indole	$y = 0,0419 x + 63,326$	300-1100 ppm
Pyrazine	1,5-diméthylpyrazine	$y = 2 * 10^{-6} x^2 + 0,028 x + 84,648$	220-930 ppm
Composés cycliques oxygénés	5-HMF	$y = -6 * 10^{-5} x^2 + 0,454 x + 184,26$	220-1000 ppm
	2,5-furandicarboxaldehyde	$y = 0,1668 x + 95,086$	210-1000 ppm
Pyrroles	Pyrrole-2-carboxaldehyde	$y = 0,0966x + 40,427$	250-980 ppm
Caprolactame	Caprolactame	$y = 0,075 x + 20,205$	240-970 ppm
γ-butyrolactone	γ-butyrolactone	$y = 0,1051 x + 42,556$	240-1120 ppm
Alcane ⁽¹⁾	Heptadécane	$y = 31,77x$	1200-30000 ppm
Amides	Octadécaneamide	$y = 17,39x$	600-40000 ppm
Acides gras	Acide octadécanoïque	$y = 14,26x$	600-40000 ppm
Phytostérols	Cholestérol	$y = 18,87x$	180-6500 ppm

Quatre calibrations ont été effectuées par Bruno Magalhaes, doctorant à IRCELYON, celle de l'heptadécane, celle de l'octadécaneamide qui a servi à quantifier l'hexadécaneamide, celle de l'acide octadécanoïque, utilisée pour la quantification de celui-ci mais aussi pour quantifier l'acide hexadécanoïque et 9,12,15-octadécatriénoïque et celle du cholestérol afin de pouvoir quantifier les phytostérols. Deux molécules n'ont pas été utilisées dans les résultats car peu représentatives en termes de quantification : le 3-hydroxy-3-méthyl-2-cyclopenten-1-one et le 5-HMF. Le caprolactame n'a pas été quantifié non plus car il n'a pas été détecté en GC*GC-MS.

4.5.5. Analyse thermo-gravimétrique (ATG)

L'ATG permet de mesurer la perte de masse d'un échantillon associée à une montée en température. Dans ce travail, cette analyse a permis notamment d'évaluer la quantité de bio-huile évaporée à la température des injecteurs des GC et ainsi de quantifier la partie non analysée (soit non évaporée). L'appareil utilisée est le modèle SETSYS Evolution (Setaram Instrumentation) et la rampe de température appliquée est de 2 °C/min jusqu'à 900 °C sous atmosphère d'azote.

4.5.6. Spectrométrie de masse à résonance cyclotronique (FT-ICR-MS)

L'analyse des bio-huiles par FT-ICR-MS permet une caractérisation à haute résolution de la fraction non analysée par chromatographie gazeuse car non volatile [16]. Ces analyses ont été sous-traitées au Laboratoire de Chimie et Physique - Approche Multi-échelles des milieux Complexes (Lcp-A2MC) de l'Université de Lorraine sur la plateforme MassLor Spectrométrie de masse membre de l'infrastructure Infranalytic. Le spectromètre employé est un FT-ICR 7 Teslas Bruker Solarix 2XR. Une ionisation par électronébuliseur (ESI) a été employée. Cette méthode d'ionisation est particulièrement bien adaptée pour caractériser les molécules hétéroatomiques et donc les molécules azotées [17]. L'ionisation positive est caractéristique de composés basiques et l'ionisation négative de composés neutres. Le principe de la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique est que les ions sont piégés et excités dans une cellule de résonance cyclotronique (ICR) sous l'action d'un champ électromagnétique. La mesure de la fréquence de rotation cyclotronique des ions, inversement proportionnelle au rapport m/z , permet alors une mesure précise de la masse [18]. Le spectre de masse est ensuite obtenu par la transformée de Fourier. Les échantillons (0,1 %) sont dissouts dans le méthanol et 0,1 mg/ml d'acétate de sodium est ajouté pour faciliter l'ionisation [19].

4.6. Analyse de la phase aqueuse

4.6.1. Analyse élémentaire par CHNS

L'analyse élémentaire est réalisée de la même manière que pour la biomasse (cf. 4.1.3).

4.6.2. Mesure de pH

La mesure de pH de la phase aqueuse après filtration est effectuée de la même manière que pour la biomasse diluée (voir partie 4.1.2).

4.6.3. Analyse du carbone organique total (COT-m)

Les analyses par COT-m ont été réalisées sur les échantillons du plan d'expérience n°1 (voir partie 6) afin de déterminer le taux de carbone en phase aqueuse et de pouvoir calculer le bilan carbone. Le COT-m permet de mesurer la teneur en carbone inorganique et en carbone organique (différence entre carbone total et inorganique). La mesure du carbone total s'effectue par une combustion dans un four à 680 °C et oxydation, le CO formé est ensuite transformé en CO₂ par des catalyseurs de platine. Pour la mesure du carbone inorganique, l'échantillon passe par un bain d'acide phosphorique qui transforme les carbonates en CO₂. Le CO₂ est ensuite quantifié dans les deux cas. Suite au dysfonctionnement de cet appareil pendant la thèse, l'analyse par CHNS a été privilégiée pour la suite des expériences.

4.6.4. Chromatographie ionique

La chromatographie ionique est une technique analytique adaptée aux phases aqueuses. Elle permet de détecter des cations comme le lithium (Li), le sodium (Na), l'ammonium (NH₄), le magnésium (Mg), le potassium (K) et le calcium (Ca) et des anions comme le chlore (Cl), le nitrate (NO₃), le sulfate (SO₄), le phosphate (PO₄) et le thiosulfate (S₂O₃). L'appareil est un chromatographe Dionex ICS-3000. Le dosage des cations s'effectue grâce à la colonne Dionex IonPac CS-16 (5 x 250 mm) couplée à la pré-colonne Dionex IonPac CG-16 (5 x 50 mm). Et le dosage des anions s'effectue avec la colonne Dionex IonPac AS-17C (4 x 250 mm) et la pré-colonne Dionex IonPac AG-17C (4 x 50 mm).

Dans notre cas, l'élément plus particulièrement suivi est l'ion ammonium (cation). Les échantillons de phase aqueuse sont dilués par 1000 dans l'eau déionisée avant d'être injecté à hauteur de 25 µL. L'éluant utilisé est une solution d'acide méthylsulfonique (MSA) de concentration 48 mmol/L et le débit est fixé à 1 ml/min. La température de la colonne est maintenue à 35 °C. De plus, la gamme d'étalonnage de l'ammonium a été réalisée entre 0,05 mg/L et 25,044 mg/L.

4.6.5. GPC-SEC

L'analyse de phase aqueuse par GPC-SEC nécessite l'utilisation de colonnes adaptées et un changement de solvant. Un prétraitement a donc été effectué afin de récupérer la partie organique, à savoir, une extraction par l'acétate d'éthyle suivi de l'évaporation du solvant. Les extraits organiques de la phase aqueuse sont dilués à hauteur de 10 % dans le THF et filtré par un filtre-seringue de 45 µm. La méthode utilisée est identique à celle décrite pour les bio-huiles.

Une calibration couvrant la gamme 162 - 400000 Da a été réalisée avec des standards de polystyrène, on exprimera donc la masse de nos échantillons en Da équivalent polystyrène.

4.6.6. Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

La chromatographie en phase gazeuse n'est pas adaptée à l'analyse des phases aqueuses de par la présence trop importante d'eau qui entraîne des complications liées à l'injection et notamment au volume occupé lors de la vaporisation de l'eau dans le liner situé avant la colonne. Un prétraitement de la phase aqueuse est donc nécessaire.

Les premières analyses, non présentées dans la thèse, ont été réalisées sur la colonne DB-1701, identique à celle utilisée pour l'analyse des bio-huiles. Dans ce cas, le prétraitement appliqué était celui mis au point précédemment au laboratoire, à savoir, une extraction à l'acétate d'éthyle, une dilution dans l'acétate d'éthyle (2 %) et filtration des échantillons à 20 µm. Le programme de température appliqué était le suivant : une température de 45 °C pendant 10 min, une rampe de température de 6 °C/min permettant d'atteindre 230 °C pendant 9,17 min, puis une seconde rampe à 10 °C/min permettant d'atteindre 250 °C pendant 20 min.

Dans un but d'identification et de quantification de molécules cibles, une autre méthode de prétraitement a été mise au point afin de conserver une plus grande partie des molécules. La méthode suivante a finalement été choisie : une extraction au dichlorométhane est tout d'abord réalisée, suivi d'une évaporation du solvant pour la partie organique et d'une lyophilisation pour la partie non extraite restée dans la phase aqueuse. La lyophilisation permet de limiter la dégradation ou l'évaporation des composés causée par les méthodes classiques de séchage telle que l'évaporation au rotavap ou à l'étuve [20,21]. Les deux extraits, appelés Extrait Organique de la Phase Aqueuse (EOPA) et Extrait Non Soluble (ENS), sont ensuite dilués dans le dichlorométhane et dans l'éthanol respectivement. L'hexane a été choisi en tant qu'étalon interne dans l'éthanol et l'acétonitrile a été choisi pour le dichlorométhane. Le programme de température utilisé est le même que celui optimisé sur la bio-huile, soit une

température de départ fixée à 45 °C pendant 2 min, une rampe de température de 5 °C/min jusqu'à 180 °C et après un palier de 5 min, une seconde rampe de 2 °C/min pour atteindre la température finale de 250 °C pendant 25 min.

Extraction au DCM puis décantation

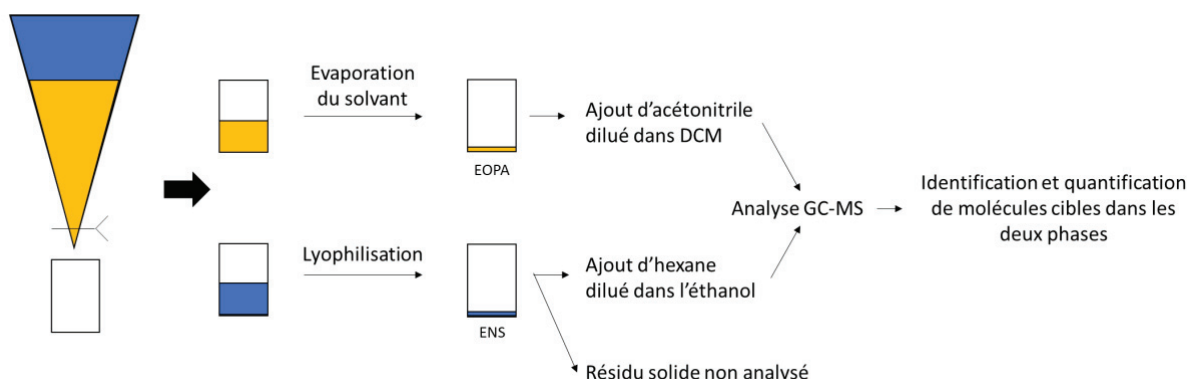


Figure II-13 : Protocole de prétraitement de la phase aqueuse

De plus, la séparation par la colonne DB-1701 n'étant pas optimale, la colonne Stabilwax (60 m*0.25mm*0.25µm), plus polaire a été utilisée, ci-dessous un exemple de l'amélioration de la séparation observée sur une partie du chromatogramme :

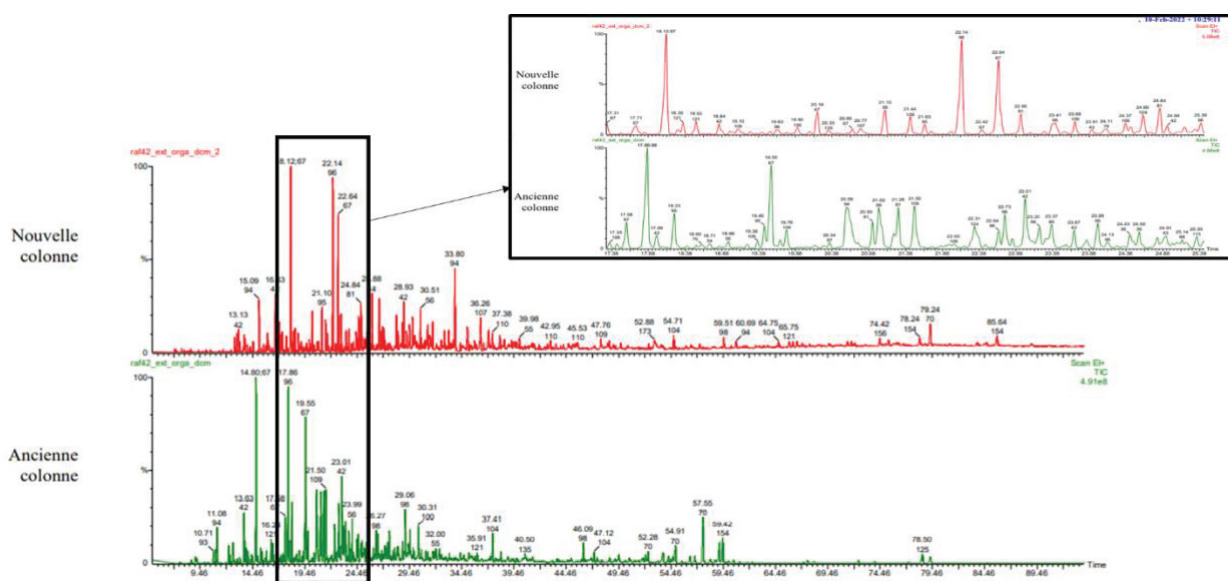


Figure II-14 : Comparaison de l'analyse d'un échantillon de phase aqueuse avec l'ancienne colonne DB-1701 (en vert) et la nouvelle colonne Stabilwax (en rouge)

Le glycérol, le phénol et le caprolactame ont été étalonnés sur cette nouvelle colonne. Ces molécules ont été choisies par leur intérêt en terme de compréhension du schéma réactionnel (voir Chapitre IV) et par leur bonne séparation sur le chromatogramme, nécessaire à la quantification par GC-MS. Les courbes d'étalonnage du phénol et du caprolactame ont été réalisées après dilution dans le DCM et avec l'acétonitrile en étalon

interne et celle du glycérol a été réalisée après dilution dans l'éthanol et avec l'hexane comme étalon interne ; Les courbes de calibration sont données en annexe 2-E.

La mise au point de la méthode de prétraitement, l'identification ainsi que les courbes de calibration ont été réalisées à l'aide de Lisa Gribal, apprentie au laboratoire.

4.6.7. Chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse à temps de vol (LC/QToF-MS)

L'analyse de la phase aqueuse pure (sans extraction) n'étant pas adaptée à la GC-MS, des analyses par LC/QToF-MS ont été réalisées. Cette méthode permet d'analyser une fraction pure de phase aqueuse, sans extraction. L'analyse et le traitement des données ont été réalisés à l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) de Lyon avec l'aide de Karine Faure. L'appareil utilisé est de la marque Agilent Infinity 1290 et est équipé d'une colonne CSH phényl hexyl (10 m*2,1 mm*1,7 µm), peu polaire. La température du four est réglée à 30 °C et les phases mobiles sont l'eau et l'acétonitrile avec 0,1 % d'acide formique afin de stabiliser le pH. Un gradient est appliqué à la phase mobile, par conséquent, on part d'un mélange à 1 % d'acétonitrile au départ et arrive à 40 % à la fin. Le mode chromatographique inverse est alors appliqué. Cela consiste à combiner une phase stationnaire peu polaire avec une phase mobile polaire et permet de séparer les molécules selon le caractère hydrophobe.

Les échantillons ont été injectés purs à un volume de 10 µL. La détection en masse a été effectuée sur un appareil Agilent QToF après ionisation par électronébuliseur (ESI) sur une gamme allant de 100 à 1700 m/z, en mode positif et négatif. L'ESI est une technique d'ionisation douce qui ne fragmente pas totalement les molécules, le pic moléculaire est le plus souvent visible, ce qui n'est pas forcément le cas lors d'une ionisation par impact électronique. L'analyse des phases aqueuses par chromatographie liquide menant à de nombreuses coélutions, cette méthode d'ionisation facilite l'identification des molécules. L'ionisation des molécules en mode positif mène à la formation d'espèce multichargées de forme $[M+nH]^{n+}$ et de forme $[M-nH]^{n-}$ en mode négatif. Le mode positif permet de mettre en avant les molécules à caractère basique (molécules azotées) et le mode négatif met en avant les molécules capables de perdre un proton donc principalement les acides. Ensuite, les ions sont séparés à l'aide d'un quadripôle, entrent dans une cellule de collision pour se fragmenter puis l'analyseur à temps de vol (ToF) détecte les masses. L'analyseur ToF mesure le temps que met une particule chargée pour atteindre un détecteur situé à une distance connue. Ce temps est ensuite relié au rapport masse sur charge de la particule, ce qui permet de mesurer sa masse avec une grande précision.

Vu la complexité moléculaire des phases aqueuses, la chromatographie en phase liquide ne permet pas de séparer les composés, les pics recouvrent plusieurs molécules. Il est donc indispensable de se baser sur des molécules cibles lors du traitement des données, contrairement à la GC. La liste des molécules cibles a été créée en se basant sur les dégradations théoriques des lipides, carbohydrates et protéines (en ciblant les acides aminés les plus abondants dans les micro-algues) (voir annexe 2-F) mais aussi sur les molécules détectées dans la bio-huile en GC ou GC*GC/MS (voir Chapitre IV) qui peuvent être solubles à la fois dans la bio-huile et dans la phase aqueuse.

Les masses des différentes molécules cibles ont été extraites une par une sur le chromatogramme et un premier tri a été effectué en identifiant les molécules qui émettent un signal (présence de pic) ou non. Les molécules présentant un signal sur le chromatogramme ont été étudiées plus en détails. Un pic est considéré comme significatif si le ratio signal / bruit est supérieur à 3. De plus, des critères fixés sur l'allure du pic ont été considérés pour évaluer leur précision, la symétrie doit être supérieure à 1,5 et la largeur du pic inférieure à 0,01. Les molécules ont finalement été catégorisées selon le degré de certitude de l'identification. Une molécule avec un ou plusieurs pics validant tous les critères a été considérée comme « validée ». De même lorsqu'il y avait plusieurs pics correspondants à différents ions issus de la même molécule. Une molécule ayant plusieurs pics en positif et négatif ou des pics non identifiés a été catégorisée comme « probable » et une où un signal a été détecté mais avec un pic ne suivant pas les critères a été mis dans une catégorie « peu probable ».

4.7. Résumé de l'analyse des produits

Cette partie a décrit l'ensemble des méthodes analytiques utilisées pour caractériser la biomasse et les produits obtenus en sortie d'HTL. Le Tableau II-6 regroupe les techniques analytiques réalisées sur les produits ainsi que les informations obtenues suite à ces analyses.

Tableau II-6 : Résumé des analyses réalisées sur les produits issus de l'HTL

Echantillon	Appareil analytique	Informations
Biocrude	Karl Fisher	Taux d'humidité
Gaz	μ GC	Composition en CO ₂ , H ₂ , O ₂ , N ₂ , CO, CH ₄
Char	CHNS	Composition élémentaire
Bio-huile	GPC-SEC	Masse moléculaire moyenne en masse et en nombre
	GC-MS	Structure des molécules de la fraction légère de la bio-huile
	GC*GC-MS	Structure des molécules de la fraction légère de la bio-huile
	GC*GC-FID	Quantification des molécules de la fraction légère de la bio-huile
	ATG	Quantification de la partie non volatile en GC
	FT-ICR	Formule brute des molécules azotées et oxygénées présentes dans la bio-huile
Phase aqueuse	CHNS	Composition élémentaire
	pH	Mesure du pH
	Chromatographie ionique	Dosage de l'ammonium
	GPC-SEC	Masse moléculaire moyenne en masse et en nombre
	GC-MS	Structure des molécules présentes dans la phase aqueuse
	LC-QToF/MS	Structure des molécules présentes dans la phase aqueuse non extraite

5. Traitement des résultats

Dans cette partie, la méthodologie du plan d'expérience avec notamment le calcul des effets de chaque paramètre sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote sont décrits. Les outils de *machine learning* utilisés pour la modélisation et la méthode associée à la modélisation cinétique seront également expliqués.

5.1. Méthodologie du plan d'expérience

Un plan d'expérience à 3 facteurs et 2 niveau (2^3) a été réalisé, c'est un plan factoriel complet car toutes les expériences ont été réalisées, cela représente 8 conditions différentes [22]. Le niveau 0 n'a pas été testé mais servira à la compréhension de l'effet moyen des paramètres sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote, expliqué par la suite. Dans notre cas, la réponse étudiée (y) est d'une part le rendement en bio-huile et d'autre part le taux d'azote dans l'huile.

Tableau II-7 : Conditions d'HTL utilisées pour l'étude des effets (niveau -1 et niveau 1)

Niveau	Température (°C)	Temps de séjour (min)	Taux de matière organique (%)
-1	270	5	10
0	310	12,5	13,5
1	350	20	17

L'effet des différents paramètres sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote peut être évalué afin de savoir quels facteurs ont une influence significative et s'il existe des interactions entre les facteurs. Pour cela, on peut déterminer l'effet moyen d'un facteur, il représente la variation de réponse y quand le facteur passe du niveau moyen (0) au niveau haut (+1). Par exemple, l'effet moyen de la température sur le rendement permet de savoir de combien (en %) on élève le rendement en bio-huile si on passe du niveau 0 (médian) au niveau 1 (350 °C). Le Tableau II-8 correspond à la matrice des effets nécessaire au calcul de l'effet moyen des différents paramètres sur le rendement en bio-huile obtenu suite à l'HTL de 2020RAFCS1. Avec 1 ou -1 selon le niveau du paramètre considéré, A, le coefficient relié à la température, B au temps de séjour, C au pourcentage de matière organique inséré dans le réacteur et les interactions entre les différents facteurs, AB, AC et BC. Le niveau (1 ou -1) attribué aux interactions est déduit en multipliant les niveaux des paramètres correspondants.

La colonne Y_n correspond à la moyenne des essais (n) lorsqu'il y a eu un duplicata et à la valeur unique dans les autres cas. Par exemple, l'essai n=1 relié au rendement en bio-huile égal à 30,5 % a été réalisé avec une température de 270 °C, un temps de séjour de 5 min et un taux de matière organique de 10 %.

Tableau II-8 : Exemple de la matrice des effets du lot 2020RAFCS1

n	x(A)	x(B)	x(C)	x(AB)	x(AC)	x(BC)	Y_n (%)
1	-1	-1	-1	1	1	1	30,5
2	1	-1	-1	-1	-1	1	45
3	-1	1	-1	-1	1	-1	49,6
4	1	1	-1	1	-1	-1	45,5
5	-1	-1	1	1	-1	-1	34,4
6	1	-1	1	-1	1	-1	58,1
7	-1	1	1	-1	-1	1	47,8
8	1	1	1	1	1	1	46,4

Cette matrice permet de calculer l'effet moyen, qui est la somme des multiplications du coefficient correspondant au paramètre ciblé par la valeur expérimentale du rendement, on a donc un effet moyen pour chaque paramètre et interaction. Par exemple, le calcul de l'effet moyen (E) de la température (A) est décrit par l'équation (2. 24).

$$E(A) = \frac{\sum_{1}^{8}(x(A)_n * Y_n)}{8} \quad (2. 24)$$

5.2. Modélisation par apprentissage ou *machine learning*

Toutes les modélisations par apprentissage ont été testées en utilisant le logiciel *Python*. Il existe de nombreuses méthodes de modélisation par apprentissage, les réseaux de neurones sont les outils les plus avancés dans ce domaine. La modélisation par apprentissage se base sur le fonctionnement biologique du réseau neurone/synapse. Dans le cerveau, l'apprentissage d'une tâche se fait par ajustement des efficacités synaptiques. On enregistre des données d'entrées et quand le résultat n'est pas celui initialement souhaité alors l'action

est ajustée. Toute machine entraînée par apprentissage supervisé a pour but de prédire un comportement et se base sur la minimisation de l'erreur entre la valeur effectivement obtenue et la valeur prédite par la machine, tout comme lorsque l'on cherche à modéliser les données par une fonction mathématique quelconque [23]. Une méthode d'apprentissage simple à prendre en main et adaptée à un jeu de données de l'ordre de la centaine est l'arbre de décision. Il permet de prédire un paramètre de sortie en catégorisant les paramètres d'entrée. Cependant, différentes versions de ces méthodes ont été créées afin d'améliorer la précision de prédiction, celles-ci sont décrites dans les parties suivantes.

5.2.1. Arbre de décision et forêt d'arbres décisionnels (Regression Tree et Random Forest)

L'arbre de décision (*Decision Tree*) est la méthode ayant servi de base au développement des autres modèles. On parle plus précisément d'arbre de régression (*Regression Tree*) quand la valeur à prédire est numérique (ici le rendement en bio-huile). L'arbre se construit de proche en proche en plaçant en premier (en haut de l'arbre) le paramètre qui discrimine le plus les valeurs. Prenons l'exemple de la température, on peut représenter tous les essais sur un graphique avec en ordonnée le rendement en bio-huile et en abscisse, la température. Une température est testée, par exemple $T = 275\text{ °C}$, et la somme des résidus (écart entre les valeurs expérimentales et la moyenne des valeurs au carré) est calculée de part et d'autre de cette température et additionnée (Figure II-15). Ce calcul est réalisé pour chaque température et la valeur qui correspond à la plus petite somme des résidus fixera la première séparation de l'arbre. S'il y a plusieurs paramètres (ce qui est notre cas), la démarche est réalisée pour chaque paramètre et les sommes des résidus de chaque paramètre sont comparées. Les paramètres sont séparés de cette manière tant que le nombre d'essai est supérieur ou égal à 2 [24,25] de part et d'autres de la séparation afin d'éviter l'*overfitting*, puis le rendement attribué est la moyenne des 2 valeurs. Il est également possible d'éviter l'*overfitting* en enlevant des étapes de séparation dans l'arbre, on évalue alors le *Tree score*, pour savoir la configuration de l'arbre la plus représentative.

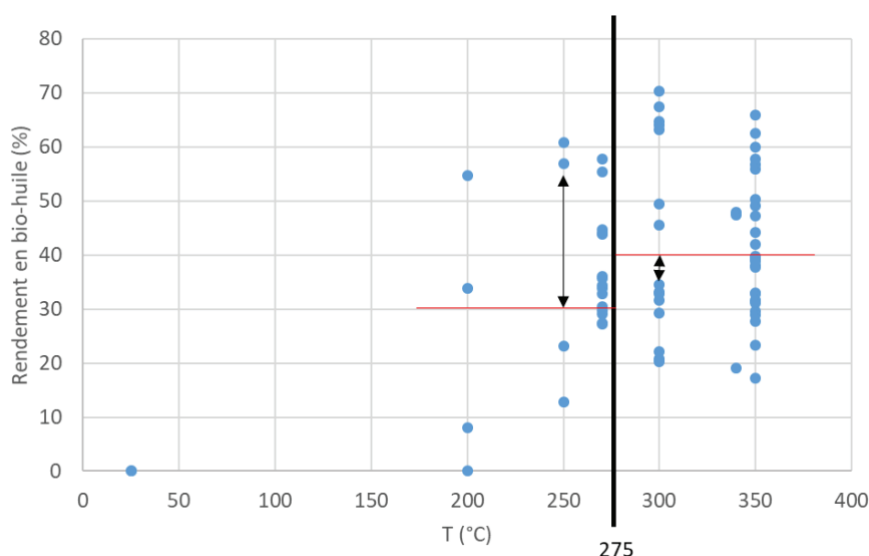


Figure II-15 : Calcul du paramètre le plus discriminant (exemple de la température)

La forêt d'arbres décisionnels ou *Random forest* [26] réduit la variance des prévisions d'un arbre de décision seul, il combine plusieurs arbres de décision en effectuant d'une part un tirage aléatoire sur les essais (lignes) et un tirage aléatoire sur les variables (ou paramètres). Par exemple un arbre va être construit sur une vingtaine d'essais et en considérant la température (275 °C) et le taux de MS (10 %) alors qu'un autre va se baser sur une dizaine d'essais en prenant en compte la température (225 °C) et le taux de lipides de l'algue (30 %). La précision des différents arbres est évaluée en testant l'arbre sur les échantillons qui n'ont pas été pris en compte dans le tirage aléatoire (*Out-of-bag samples*) et si l'arbre ne prédit pas correctement l'échantillon, le nombre de variables choisi à la base est ajusté jusqu'à avoir une bonne prédiction. Pour prédire la réponse d'un nouvel échantillon, on va alors le tester sur tous les arbres et statistiquement conclure sur la réponse la plus représentative.

5.2.2. L'amplification de gradient (*Gradient Boosting*)

Une autre méthode basée sur l'arbre de décision est utilisée pour améliorer la précision de la prédiction, c'est le *Gradient Boosting* [27,28]. Un nombre d'arbre et de « feuilles » représentant les résultats est attribué au début du programme, le point de départ est ici la valeur moyenne des résultats (rendement en bio-huile). Pour chaque essai, les résidus sont calculés à partir de cette moyenne, puis un arbre est construit de la même manière que décrit précédemment, afin de prédire non pas le rendement comme dans l'arbre de décision mais la valeur des résidus. La nouvelle valeur prédite du résultat est alors la moyenne des rendements, à laquelle on ajoute le résidu prédit par l'arbre multiplié par un coefficient d'apprentissage (fixé à 0,1). Des nouveaux résidus sont alors calculés par rapport à la nouvelle

valeur du résultats et attribués à chaque essai, ce qui permet de construire un nouvel arbre. Et ainsi de suite, jusqu'à ce que la valeur du résultat ne varie plus ou que le nombre d'arbres fixé au début soit atteint.

L'*eXtreme Gradient Boosting* (XGBoost) suit le même principe mais les paramètres du modèle ont été modifiés pour être plus rapide et plus performant.

5.2.3. *Evaluation de la précision du modèle*

Chaque modélisation a été évaluée par le coefficient de corrélation (R^2) et la moyenne quadratique (RMSE). Le R^2 permet d'évaluer l'efficacité des variables à prédire la sortie et la RMSE représente en moyenne, l'écart observé entre l'échantillon et la valeur prédite. Si le coefficient de corrélation est proche de 1, on peut conclure qu'il existe une corrélation entre les paramètres d'entrée et de sortie et plus la RMSE est petite, plus la prédiction est précise. De plus, chaque jeu de données a été séparé en deux, une partie dédiée à l'apprentissage du modèle (*train*) et l'autre au test (*test*) (soit 20 % des données). La valeur des coefficients (R^2 et RMSE) du jeu de donnée *test* va permettre d'évaluer la précision du modèle.

5.3. Modélisation cinétique

La modélisation cinétique permet de prendre en compte le schéma réactionnel de décomposition contrairement aux modélisations de type régression ou *machine learning*. La modélisation proposée dans la thèse se base donc sur un schéma cinétique construit à partir du schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* en conditions de liquéfaction hydrothermale proposé en Chapitre IV à partir des données de la littérature et modifié suite à l'étude expérimentale. Le modèle a été développé à l'aide de l'outil de calcul mathématique *Python*. Ce code a été mis au point dans le laboratoire durant plusieurs années à travers des stages et projets.

Le programme développé considère différentes réactions chimiques faisant évoluer les composant de la biomasse et les molécules produites. Cependant, les familles moléculaires considérées ne sont représentées que par les rendements massiques en bio-huile, phase aqueuse, char et gaz. Aucun suivi quantitatif des molécules n'est renseigné dans ce modèle. Les familles de molécules sont parfois réparties entre la bio-huile et la phase aqueuse, dans ce cas un coefficient de répartition de 0,5 a été fixé arbitrairement. Ces réactions chimiques sont décrites dans le modèle par des équations différentielles de type Arrhenius impliquant un facteur pré-exponentiel (A) et une énergie d'activation (E_a). Des réactions cinétiques de

premier ordre, soit un produit A se transforme en un produit C ($A \rightarrow C$) avec une constante de vitesse k, ont été supposées pour une partie des réactions et le second ordre a été choisi dans le cas d'interactions entre deux réactifs ($A + B \rightarrow C$). La vitesse de décomposition d'une famille de molécules A s'exprime donc par l'équation (2. 25) dans le cas d'une réaction de premier ordre et par l'équation (2. 26) dans le cas d'une réaction de second ordre. De la même manière, la vitesse de formation du composé C s'exprime par la relation (2. 27) pour l'ordre 1 et par (2. 28) pour l'ordre 2. Les réactions d'hydrolyse ont été considérées comme des réactions de pseudo-ordre 1 car l'eau étant le solvant, la variation de sa concentration au cours du temps est négligeable.

$$V_A = -\frac{d[A]}{dt} = k * [A] \quad (2. 25)$$

$$V_A = -\frac{d[A]}{dt} = k * [A][B] \quad (2. 26)$$

$$V_C = \frac{d[C]}{dt} = k * [A] \quad (2. 27)$$

$$V_C = \frac{d[C]}{dt} = k * [A][B] \quad (2. 28)$$

V_A : vitesse de décomposition du composé A (g/L/s)

V_C : vitesse de formation du composé C (g/L/s)

t : temps (s)

[A] : concentration massique en réactif A (g/L)

[B] : concentration massique en réactif B (g/L)

[C] : concentration massique en produit C (g/L)

k : constante de vitesse (en s^{-1} pour l'ordre 1 ou en $L.g^{-1}.s^{-1}$ pour l'ordre 2)

La constante de vitesse k est variable selon l'énergie d'activation (E_a), soit l'énergie nécessaire à la réaction et selon la température appliquée, on la définit par l'équation suivante :

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (2. 29)$$

Ea : énergie d'activation (J/mol)

R : constante des gaz parfaits (J/mol/K)

T : température (K)

A : coefficient pré-exponentiel (en s^{-1} pour l'ordre 1 ou en $L.g^{-1}.s^{-1}$ pour l'ordre 2)

Les paramètres d'entrée, soit la composition des micro-algues (carbohydrates, lipides et protéines), et les rendements en produits (phase aqueuse, bio-huile, char et gaz) obtenus dans différentes conditions, sont ensuite renseignés à l'optimiseur. Celui-ci exécute tous les cas d'études et compare les résultats du modèle avec les résultats expérimentaux. Il ajuste alors les paramètres d'Arrhenius pour minimiser l'écart entre la valeur prédite et la valeur expérimentale. Le modèle a été développé de sorte à prédire avec précision le rendement massique en bio-huile, un coefficient a donc été introduit pour minimiser d'avantages l'écart entre la valeur prédite et expérimentale pendant l'optimisation.

Le modèle a été optimisé sur les 64 essais réalisés en réacteur batch dans le cadre de la thèse et s'est basé sur des bilans massiques égaux à 100 % et sur un volume réactionnel constant. Le détail des réactions est donné en Chapitre V.

6. Présentation des essais

Les essais de conversion hydrothermale en réacteur fermé ont suivi deux plans d'expériences (Tableau II-9 et Tableau II-11) et des essais supplémentaires ont été réalisés pour des études spécifiques (Tableau II-10 et Tableau II-13). Ils ont été mené sur différents lots d'algues et dans différentes conditions de température, de temps de séjour et de taux de matière organique. Des essais continus sont également répertoriés en Tableau II-12.

Tableau II-9 : Plan d'expérience n°1

Lot	REF	T (° C)	MO (%)	Temps de séjour (min)	Temps expérimental (min)
2020RAFCS1	RAF 12	270	10	5	33
	RAF 29	350	10	5	35
	RAF 37				35
	RAF 14	270	10	20	53
	RAF 21				52
	RAF13	270	17	5	42
	RAF 23				40
	RAF 30	350	10	20	52
	RAF 38				50
	RAF 31	350	17	5	45
	RAF 39				39
	RAF 15	270	17	20	54
	RAF 24				56
	RAF 40	350	17	20	57
2020RAFCS3	RAF 19	270	10	5	40
	RAF 25				42
	RAF 33	350	10	5	34
	RAF 41				36
	RAF 16	270	10	20	52
	RAF 26				55
	RAF 45	270	17	5	42
	RAF 27				45
	RAF 34	350	10	20	48
	RAF 42				51
	RAF 35	350	17	5	34
	RAF 43				29
	RAF 20	270	17	20	60
	RAF 28				58
	RAF 36	350	17	20	43
RAF 46	44				

Tableau II-10 : Essais en conditions optimales

Lot	REF	T (°C)	MO (%)	Temps de séjour (min)	Temps expérimental (min)
2020RAFCS4	RAF 48	350	17	5	35
2020RAFCS4	RAF 49	350	17	5	35

Tableau II-11 : Plan d'expérience n°2

Lot	REF	T (°C)	MO (%)	Temps de séjour (min)	Temps expérimental (min)
2020RAFCS4	RAFCINCS1	25	10	0	0
	RAFCINCS2	200		0	12
	RAFCINCS3-2			30	42
	RAFCINCS4	250		0	15
	RAFCINCS5-2			30	45
	RAFCINCS6	300		0	18
	RAFCINCS7			5	23
	RAFCINCS8			10	28
	RAFCINCS9			20	38
	RAFCINCS10	350		30	48
	RAFCINCS11			0	22
	RAFCINCS12			5	27
	RAFCINCS13			10	32
	RAFCINCS14			20	42
	RAFCINCS15	30		52	
2021RAFVC2	RAFCINCV1	25	10	0	0
	RAFCINCV2	200		0	18
	RAFCINCV3			30	52
	RAFCINCV4	250		0	18
	RAFCINCV5			30	50
	RAFCINCV6	300		0	27
	RAFCINCV7			5	30
	RAFCINCV8			10	36
	RAFCINCV9			20	53
	RAFCINCV10	350		30	57
	RAFCINCV11			0	29
	RAFCINCV12			5	36
	RAFCINCV13			10	38
	RAFCINCV14			20	48
	RAFCINCV15	30		58	

Tableau II-12 : Essais en continu

Lot	REF	T (°C)	MO (%)	Temps de séjour (min)	Temps expérimental (min)
2020RAFCS2	RAF 11	300	10	15	15
2020RAFCS2	RAF 17	300	10	15	15
2021RAFCV1	RAF 47	300	10	15	15
2021RAFCV3	RAF 55	340	10	15	15
2021RAFCV4	RAF 56	340	10	15	15
2021RAFCV5	RAF 57	340	10	15	15

Tableau II-13 : Essais en réacteur batch pour comparaison du réacteur batch et continu

Lot	REF	T (°C)	MO (%)	Temps de séjour (min)	Temps expérimental (min)
2021RAFCV1	RAF 50	300	10	15	45
2020RAFCS3	RAF 54	300	10	15	35

Une première série d'expériences, exposée dans le Tableau II-9, a été réalisée afin de déterminer les conditions optimales pour augmenter le rendement en bio-huile et diminuer la quantité d'azote dans la bio-huile. Pour cela, deux lots de *C. sorokiniana* ont été considérées, 2020RAFCS1 et 2020RAFCS3, et deux valeurs ont été testées pour chaque paramètres (température, taux de matière organique, temps de séjour). Chaque expérience a été réalisée deux fois dans la mesure du possible. Deux essais sur 2020RAFCS1 n'ont pas pu être réalisés en duplicata (270 °C, 5 min, 10% de MO et 350 °C, 20 min, 17% de MO) par manque de biomasse. L'écart-type et la moyenne ont été calculés pour traiter les données du chapitre III et pour les différentes modélisations, chaque valeur a été considérée individuellement. Ce qui représente 14 essais pour 2020RAFCS1 et 16 essais pour 2020RAFCS3, soit 30 essais au total.

Deux essais supplémentaires ont été réalisé sur un troisième lot (2020RAFCS4) afin de tester les conditions optimales sur une autre biomasse (voir Tableau II-10).

La deuxième série d'expériences (voir Tableau II-11), dédiée principalement à l'étude cinétique, a été réalisée sur un lot de *C. sorokiniana* : 2020RAFCS4 et un lot de *C. vulgaris* : 2021RAFCV2. Les essais n'ont pas été réalisés en duplicata. Le taux de matière organique est fixé à 10 %, la température varie de 250 à 350 °C et le temps de séjour de 0 à 30 min. Ce qui représente au total 30 essais.

De plus, six essais ont été réalisés en réacteur continu (voir Tableau II-12), afin d'évaluer l'efficacité de l'optimisation paramétrique obtenue dans le premier plan d'expérience en

réacteur batch. Ces essais ont permis de produire une quantité de bio-huile suffisante dans le cadre de la thèse menée à IRCELYON sur le raffinage catalytique par Bruno Magalhaes. Ils ont été réalisés à 300 et 340 °C, avec un taux de MO de 10 % et un temps de séjour de 15 min. Deux essais batch dans les mêmes conditions (300 °C, 10 % de MO et 15 min) ont permis d'évaluer les différences entre procédé batch et continu (voir Tableau II-13).

La reproductibilité des essais n'a pu être évaluée que pour les essais du plan d'expérience n°1 (Tableau II-9). Au total, 64 essais en réacteur fermé batch et 6 essais continus ont été réalisés et seront analysés dans les chapitres suivants.

7. Conclusion

Ce chapitre a permis de faire le point sur les lots de micro-algues utilisés et leur composition. Cet aspect étant directement lié aux résultats obtenus dans les prochains chapitres, il est important de préciser dans quelles conditions a été effectuée la culture et les caractéristiques de chaque lot. Par la suite, les méthodes analytiques associées à la fois à la biomasse et aux différents produits ont été décrites. Les calculs des rendements massiques et bilan carbone et massique ont ensuite été présentés, ils permettent d'évaluer l'efficacité des essais et leur précision. Puis les méthodologies associées aux modélisations par *machine learning* et cinétique ont été expliquées. Pour finir, les différents essais réalisés sur le réacteur fermé (batch) et sur l'installation en continu ont été présentés. Le chapitre suivant permet d'introduire les résultats en montrant l'effet de la composition de la biomasse et des paramètres de l'HTL sur les rendements et le taux d'azote dans la bio-huile.

Références

- [1] S.H. Hutner, L. Provosoli, A. Schatz, C.P. Haskins, Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms, *Proceedings American Phil Society*. 94 (1950) 152–170. <https://doi.org/10.2307/3143215>.
- [2] S. Zhu, Y. Wang, C. Shang, Z. Wang, J. Xu, Z. Yuan, Characterization of lipid and fatty acids composition of *Chlorella zofingiensis* in response to nitrogen starvation, *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 120 (2015) 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.12.018>.
- [3] S. Van Wychen, S.M. Rowland, K.C. Lesco, P.V. Shanta, T. Dong, L.M.L. Laurens, Advanced mass balance characterization and fractionation of algal biomass composition, *J Appl Phycol*. 33 (2021) 2695–2708. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02508-x>.
- [4] M. Lane, S. Van Wychen, A. Politis, L.M.L. Laurens, A data-driven comparison of commercially available testing methods for algae characterization, *Algal Research*. 53 (2021) 102134. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102134>.
- [5] L.M.L. Laurens, J.L. Olstad, D.W. Templeton, Total Protein Content Determination of Microalgal Biomass by Elemental Nitrogen Analysis and a Dedicated Nitrogen-to-Protein Conversion Factor, in: K. Spilling (Ed.), *Biofuels from Algae: Methods and Protocols*, Springer, New York, NY, 2020: pp. 233–242. https://doi.org/10.1007/7651_2018_126.
- [6] Michel. DuBois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, Fred. Smith, Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem*. 28 (1956) 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- [7] Y. Wang, Y. Zhang, Z. Liu, Effect of Aging in Nitrogen and Air on the Properties of Biocrude Produced by Hydrothermal Liquefaction of *Spirulina*, *Energy Fuels*. 33 (2019) 9870–9878. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b01846>.
- [8] A. Aierzhati, M.J. Stablein, N.E. Wu, C.-T. Kuo, B. Si, X. Kang, Y. Zhang, Experimental and model enhancement of food waste hydrothermal liquefaction with combined effects of biochemical composition and reaction conditions, *Bioresource Technology*. 284 (2019) 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.076>.
- [9] W. Yang, X. Li, Z. Li, C. Tong, L. Feng, Understanding low-lipid algae hydrothermal liquefaction characteristics and pathways through hydrothermal liquefaction of algal major components: Crude polysaccharides, crude proteins and their binary mixtures, *Bioresource Technology*. 196 (2015) 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.020>.
- [10] T.K. Vo, S.-S. Kim, H.V. Ly, E.Y. Lee, C.-G. Lee, J. Kim, A general reaction network and kinetic model of the hydrothermal liquefaction of microalgae *Tetraselmis* sp., *Bioresource Technology*. 241 (2017) 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.186>.
- [11] S. Anouti, G. Haarlemmer, M. Déniel, A. Roubaud, Analysis of Physicochemical Properties of Bio-Oil from Hydrothermal Liquefaction of Blackcurrant Pomace, *Energy Fuels*. 30 (2016) 398–406. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b02264>.

- [12] A. Matayeva, D. Bianchi, S. Chiaberge, F. Cavani, F. Basile, Elucidation of reaction pathways of nitrogenous species by hydrothermal liquefaction process of model compounds, *Fuel*. 240 (2019) 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.11.136>.
- [13] D.R. Vardon, B.K. Sharma, J. Scott, G. Yu, Z. Wang, L. Schideman, Y. Zhang, T.J. Strathmann, Chemical properties of biocrude oil from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* algae, swine manure, and digested anaerobic sludge, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 8295–8303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.041>.
- [14] J. Tranchant, *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*, Masson, 1995.
- [15] J.T. Scanlon, D.E. Willis, Calculation of Flame Ionization Detector Relative Response Factors Using the Effective Carbon Number Concept, *Journal of Chromatographic Science*. 23 (1985) 333–340. <https://doi.org/10.1093/chromsci/23.8.333>.
- [16] F. Cheng, Z. Cui, L. Chen, J. Jarvis, N. Paz, T. Schaub, N. Nirmalakhandan, C.E. Brewer, Hydrothermal liquefaction of high- and low-lipid algae: Bio-crude oil chemistry, *Applied Energy*. 206 (2017) 278–292. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.105>.
- [17] A.K. Huba, K. Huba, P.R. Gardinali, Understanding the atmospheric pressure ionization of petroleum components: The effects of size, structure, and presence of heteroatoms, *Sci Total Environ*. 568 (2016) 1018–1025. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.044>.
- [18] A.G. Marshall, C.L. Hendrickson, G.S. Jackson, Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer, *Mass Spectrometry Reviews*. 17 (1998) 1–35. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2787\(1998\)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2787(1998)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K).
- [19] J. Hertzog, V. Carré, Y. Le Brech, A. Dufour, F. Aubriet, Toward Controlled Ionization Conditions for ESI-FT-ICR-MS Analysis of Bio-Oils from Lignocellulosic Material, *Energy Fuels*. 30 (2016) 5729–5739. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b00655>.
- [20] B. Zhang, H. Chen, Z. He, Catalytic hydrothermal liquefaction of *Spirulina platensis*: Focusing on aqueous phase characterization, *International Journal of Energy Research*. 43 (2019) 7135–7145. <https://doi.org/10.1002/er.4738>.
- [21] Y. Chen, N. Zhao, Y. Wu, K. Wu, X. Wu, J. Liu, M. Yang, Distributions of organic compounds to the products from hydrothermal liquefaction of microalgae, *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 36 (2017) 259–268. <https://doi.org/10.1002/ep.12490>.
- [22] D.Y. Idris, *Les plans d'expériences Initiation à la construction et l'analyse des plans factoriels complets à deux niveaux et du plan composite centré*, (n.d.) 86.
- [23] Y. Le Cun, *Quand la machine apprend*, Odile Jacob, 2019.
- [24] sklearn.ensemble.RandomForestRegressor, Scikit-Learn. (n.d.). <https://scikit-learn/stable/modules/generated/sklearn.ensemble.RandomForestRegressor.html> (accessed August 9, 2022).
- [25] sklearn.tree.DecisionTreeRegressor, Scikit-Learn. (n.d.). <https://scikit-learn/stable/modules/generated/sklearn.tree.DecisionTreeRegressor.html> (accessed August 9, 2022).
- [26] T.K. Ho, Random decision forests, in: *Proceedings of 3rd International Conference on Document Analysis and Recognition*, 1995: pp. 278–282 vol.1. <https://doi.org/10.1109/ICDAR.1995.598994>.
- [27] J.H. Friedman, Greedy function approximation: A gradient boosting machine., *The Annals of Statistics*. 29 (2001) 1189–1232. <https://doi.org/10.1214/aos/1013203451>.
- [28] A. Natekin, A. Knoll, Gradient boosting machines, a tutorial, *Front Neurobot*. 7 (2013) 21. <https://doi.org/10.3389/fnbot.2013.00021>.

Chapitre III : Effets de la composition de la biomasse et des conditions opératoires sur la formation de bio-huile

Ce chapitre a pour but de déterminer l'impact de la composition de la biomasse et des paramètres de l'HTL sur le rendement massique en bio-huile et sur le taux d'azote. Ce dernier paramètre permet d'évaluer la qualité de l'huile car l'azote fait partie des molécules les plus réfractaires à l'hydrogénation catalytique réalisée lors de l'étape du raffinage, il serait donc intéressant de limiter sa formation [1–3]. L'effet de la composition de la biomasse sur le rendement massique en bio-huile et sur le taux d'azote sera donc abordée dans un premier temps, suivi par l'étude de l'influence des paramètres opératoires de l'HTL (température, temps de séjour et taux de matière organique). Ensuite, une partie sera dédiée aux effets de ces différents paramètres sur la réactivité en étudiant plus en détails les analyses GPC-SEC et GC-MS. Ces observations ayant été faite sur des essais réalisés en réacteur fermé (batch), il est intéressant de les comparer avec les essais réalisés en continu en vue d'une future montée en échelle. La quatrième partie évoquera ce point. Pour finir, deux types de modélisation ont été testés et comparés afin de prédire le rendement massique en bio-huile et le taux d'azote, la modélisation par régression linéaire et par *machine learning*.

1. Effet de la composition de la biomasse sur le rendement massique en bio huile et sur le taux d'azote dans les différents produits

Le choix de la biomasse est un critère important lors de la production de biocarburants. La plupart des études montrent qu'un taux de lipides important favorise la production de bio-huile [4]. Les protéines et carbohydrates favorisent également l'augmentation du rendement massique en bio-huile, mais introduisent des hétéroatomes qui abaissent la qualité de la bio-huile produite [5]. Nous verrons dans cette partie qu'il existe un effet direct de la composition de la biomasse sur les rendements massiques et sur la qualité des bio-huiles et notamment sur le taux d'azote. La Figure III-1 illustre la disparité de composition des 4 lots de biomasse étudiés pour les essais en réacteur fermé. D'un point de vue de la culture, les voies métaboliques de production de carbohydrates et de lipides peuvent être favorisée ou non en carence d'azote, en fonction de l'espèce de micro-algues [6]. Soit la carence implique une augmentation du taux de carbohydrates comme cela a été le cas pour *C. sorokiniana*, soit un stockage des lipides, comme pour *C. vulgaris*. Mais dans tous les cas, la proportion en protéines est diminuée lorsque la quantité d'azote dans le milieu de culture est restreinte. On a donc finalement une biomasse riche en protéines qui n'a pas été carencée (2020RAFCS1)

et trois biomasses carencées dont deux riches en carbohydrates (2020RAFCS3 et 4) et une riche en lipides (2021RAFCV2).

Les résultats présentés dans cette partie ne prennent pas en compte les essais réalisés en continu et ceux réalisés aux conditions initiales (25 °C) et à 200 °C pour 2020RAFCS4 et 2021RAFCV2 car ils ne représentent pas les conditions de liquéfaction hydrothermale.

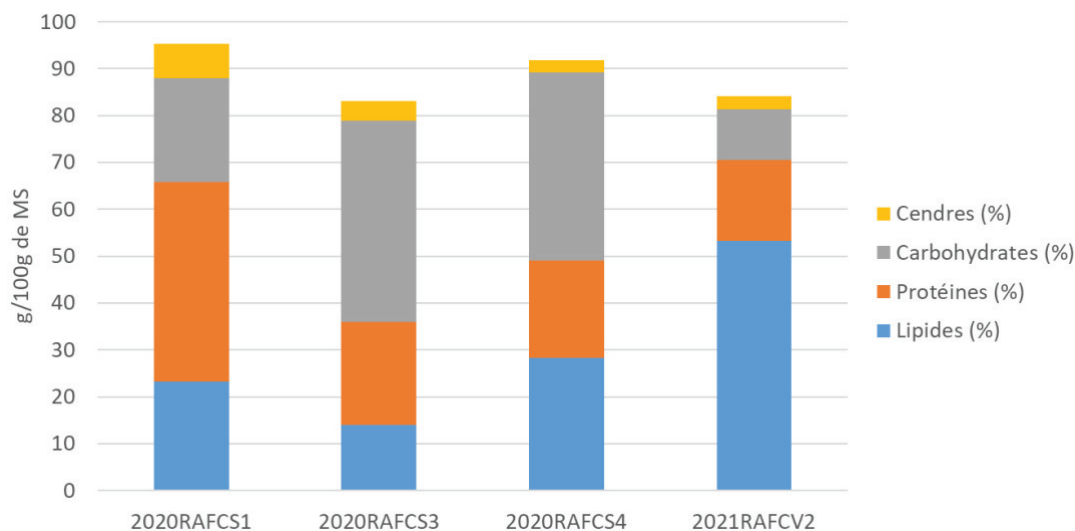


Figure III-1 : Rappel de la composition des lots de micro-algues

1.1. Étude du rendement massique en bio-huile

Comme expliqué dans le Chapitre I, la hausse du rendement massique en bio-huile peut être due à la dégradation des lipides, des protéines et des carbohydrates individuellement mais aussi aux interactions entre ces macromolécules. Ces observations vont être confirmées grâce aux essais réalisés sur ces différentes biomasses (voir Chapitre II6). La Figure III-2 présente les résultats en termes de rendement massique en bio-huile des différents essais réalisés sur les lots de biomasse présentés en Figure III-1, toutes conditions confondues. Cette représentation correspond (de bas en haut) à la valeur minimale, au 1^{er} quartile (25 % des valeurs), à la moyenne, au 3^{ème} quartile (75 % des valeurs) et à la valeur maximale. L'espace interquartile (IQR) est défini par la quantité de données entre le 1^{er} et le 3^{ème} quartile (soit 50 % des données). Les données aberrantes (sous forme de losange) sont celles en dehors de l'intervalle égal à $1,5 \cdot \text{IQR}$, soit $2,698\sigma$ (écart-type). Un losange a été représenté dans le cas du lot 2021RAFCV2 pour l'essai à 350 °C et 20 min car le rendement massique est bien en dessous de tous les autres essais.

Tout d'abord, en comparant les rendements massiques en bio-huile obtenus avec 2021RAFCV2 et 2020RAFCS4, on remarque que ceux obtenus suite à l'HTL de 2021RAFCV2 sont deux fois plus élevés (Figure III-2). Ce sont ici les lipides, et plus précisément les acides gras résultant de l'hydrolyse des triglycérides (voir Chapitre I4.2), qui favorisent l'augmentation du rendement massique car le taux de protéines est similaire pour les deux lots. Pour *C. sorokiniana*, si on compare 2020RAFCS1 et 2020RAFCS3, on remarque que le rendement massique diminue de 45 % à 30 % (Figure III-2). Les molécules menant à la production de bio-huile sont dans ce cas soit les protéines, soit l'interaction entre protéines et polysaccharides avec un ratio 2 :1, qui mène entre autres à des réactions de Maillard. En première approche, on peut dire que l'ordre d'importance des constituants de la biomasse algale, pour favoriser le rendement massique en bio-huile, est le suivant : lipides > protéines > carbohydrates, ce qui est couramment observé dans la littérature [4,7,8] et sur les micro-algues comme *C. vulgaris*, *Nannochloropsis sp.*, *Porphyridium cruentum* et *Spirulina* [9,10]. Cependant, il faut nuancer cette conclusion car les interactions entre ces différentes molécules ne sont pas prises en compte et peuvent augmenter ou baisser le rendement massique en bio-huile.

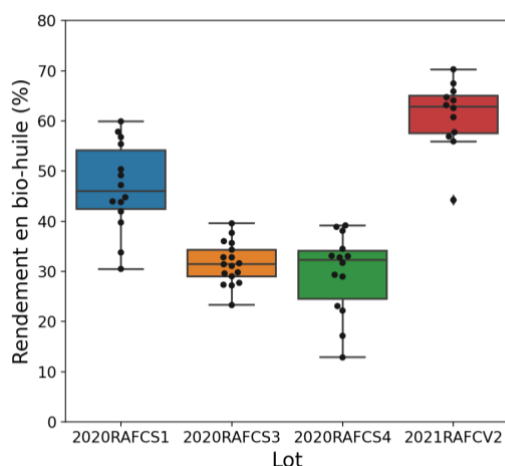


Figure III-2 : Rendement massique en bio-huile issues d'essais d'HTL réalisées dans différentes conditions (température, temps de séjour, taux de MO) et pour différents lots de micro-algues (2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4, 2021RAFCV2)

Les diagrammes de Van Krevelen donnent un aperçu de la réactivité des micro-algues via l'évolution des rapports molaires N/C, H/C et O/C avant et après HTL. La Figure III-3 illustre ces diagrammes. Pour *C. vulgaris* la réactivité est bien différente, on remarque, sur le diagramme H/C en fonction de N/C (Figure III-3, a), une très forte variabilité du taux d'azote contrairement à *C. sorokiniana*. Ce point sera discuté dans la partie 1.2 de ce chapitre. De même, pour *C. vulgaris*, on observe une augmentation du ratio H/C, autrement dit, une perte d'insaturation ou une baisse de la quantité de carbone par rapport à l'hydrogène. Cela peut venir de l'hydrogénation des doubles liaisons des acides gras insaturés (principalement l'acide linoléique) ou des réactions de décarboxylations qui diminuent le taux de carbone dans la bio-

huile par libération de dioxyde de carbone. L'hydrogénation des doubles liaisons peut effectivement avoir lieu par réaction avec l'hydrogène produit suite à la réaction *water gas-shift* ou issu de la décarboxylation de l'acide formique [11]. Cependant, la proportion d'hydrogène et de dioxyde de carbone dans le gaz est de l'ordre de 0,5 % et 94 %, respectivement, pour un essai mené à 350 °C et 20 min sur *C. vulgaris*, l'hydrogénation semble donc être négligeable par rapport aux réactions de décarboxylation.

De plus, la variation du ratio O/C (Figure III-3, b) permet de conclure sur la réactivité des composés oxygénés. On remarque que la désoxygénation s'opère d'avantages pour les biomasses 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4 plus riches en polysaccharides que pour les 2 autres, ce qui est dû au taux en oxygène plus élevé dans la biomasse initiale. Cependant, pour 2021RAFCV2, les composés oxygénés viennent principalement de la fonction carboxylique des lipides donc ce sont principalement des réactions de décarboxylation des acides gras qui ont lieu.

Finalement, une biomasse riche en lipides permet, principalement par la formation d'acides gras et de leurs produits de décarboxylation (alcanes, alcènes, alcools), d'augmenter le rendement en bio-huile.

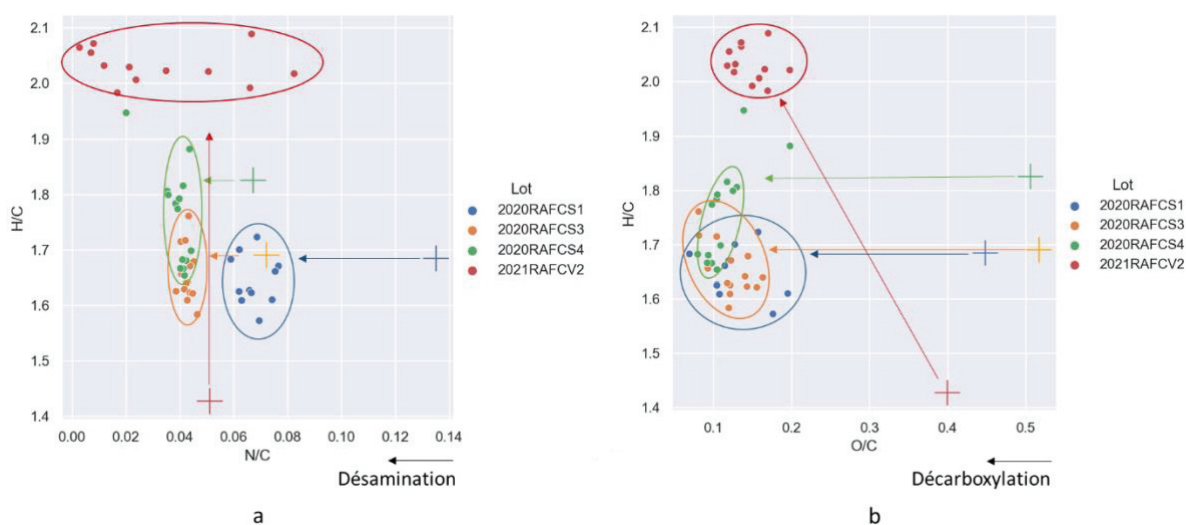


Figure III-3 : Diagramme de Van Krevelen des bio-huiles (rond) en comparaison avec la biomasse de départ (croix) ; **a** : H/C en fonction de N/C et **b** : H/C en fonction de O/C (ratios molaires)

1.2. Étude du taux d'azote dans les différents produits

La variation du taux d'azote en fonction de la nature de la biomasse va maintenant être étudiée afin de comparer la qualité des bio-huiles produites par HTL de différentes biomasses. La Figure III-4 montre la quantité d'azote (en %) présente dans la bio-huile, le char et la phase aqueuse pour les 4 lots de micro-algues et pour toutes les conditions d'essai confondues.

On remarque tout d'abord que la biomasse riche en protéines (2020RAFCS1) mène à des produits plus riches en azote en sortie d'HTL que ce soit pour la bio-huile (visible aussi en bleu sur la Figure III-3), le char et la phase aqueuse. Cet aspect a également été observé par Cheng et al. (2017) [5]. De plus, on peut supposer que le fort taux d'azote en phase aqueuse est dû aux réactions de désaminations favorisées par le rapport protéines/carbohydrates plus important pour 2020RAFCS1 que pour 2020RAFCS3 ou 2020RAFCS4. A l'inverse, lorsque la proportion en carbohydrates prédomine par rapport aux protéines, les acides aminés vont préférentiellement former des produits de Maillard en réagissant avec les carbohydrates [12].

Pour *C. vulgaris*, on observe une plus forte variation du taux d'azote dans la bio-huile et dans le char en fonction des conditions utilisées, 50 % des essais avec 2021RAFVC2 ont entre 1 et 4,5 % d'azote dans la bio-huile (Figure III-4, a). La plus grande différence avec les autres lots, en terme de composition, étant pour le taux de lipides, on peut supposer que l'augmentation du taux d'azote dans la bio-huile, dans certaines conditions de température ou de temps de séjour, provient des interactions entre lipides et protéines (celles-ci étant les principales sources d'azote) [13]. Mais on peut également penser que l'azote présent dans la bio-huile est issu de molécules azotées non ou peu présentes chez *C. sorokiniana* comme certains pigments ou bêtaines. Par contre, on observe moins d'azote dans le char pour *C. vulgaris* que pour *C. sorokiniana* (Figure III-4, b), ce qui est lié au fait que *C. vulgaris* a moins de carbohydrates donc moins d'interactions avec les protéines (réactions de Maillard) ou de condensations sont possibles pour former des molécules lourdes azotées pouvant se retrouver dans le char (mélanoïdines ou autre molécules polycycliques). On remarque également en comparant 2020RAFCS4 et 2021RAFVC2 que le taux d'azote en phase aqueuse ne varie pas en fonction de l'espèce car la proportion en protéine est similaire et la principale source d'azote en phase aqueuse vient de la désamination des protéines (formation d'ion ammonium) ou de la formation d'amines à chaîne courte par décarboxylation des acides aminés [8].

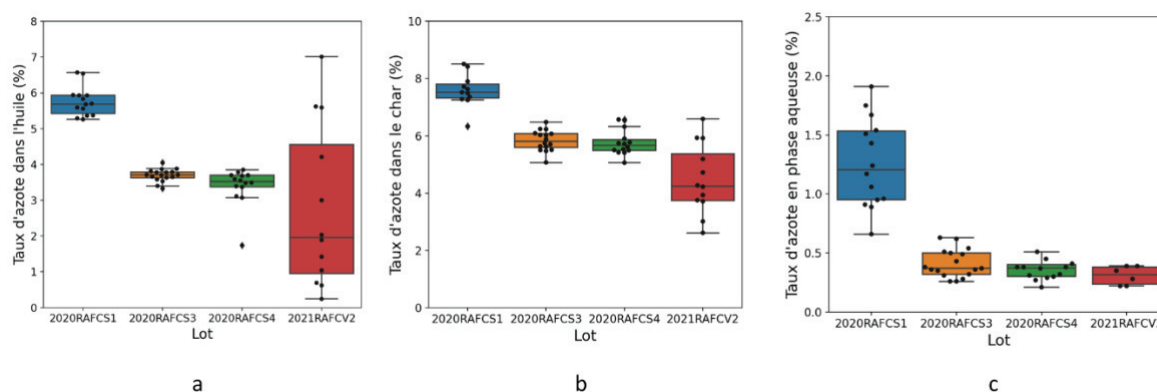


Figure III-4 : Taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) issus d'HTL de différents lots de micro-algues

La Figure III-5 représente la répartition de l'azote présent initialement dans la biomasse dans les différentes phases pour les 4 lots de biomasse et dans toutes les conditions d'HTL. On observe tout d'abord que, pour toutes les biomasses, l'azote se retrouve principalement dans la phase aqueuse avec une valeur proche de 60 % de l'azote initial. Le reste se répartit entre char et bio-huile.

Si on compare les lots carencés (2020RAFCS3 et 2020RAFCS4) et non carencé (2020RAFCS1) de *C. sorokiniana*, on observe que l'azote se retrouve d'avantages dans la bio-huile que dans le char dans le cas de l'algue non carencée. Cela est dû à l'interaction entre protéines et lipides plus présente dans le cas de 2020RAFCS1, qui mène à la présence d'amides ou d'hétérocycles azotés, solubles dans la bio-huile. Dans les deux autres lots, le taux de polysaccharides étant plus élevé, les molécules azotées produites seront d'avantages issues des réactions de Maillard entre protéines et polysaccharides, donc plus présentes dans le char.

Dans le cas de *C. vulgaris*, riche en lipides, l'azote présent initialement dans la biomasse sous forme de protéines se combine avec les acides gras pour former des amides, solubles dans la bio-huile mais peu de composés de Maillard ou de dégradation des acides aminés. On observe donc une plus forte concentration de l'azote dans la bio-huile que dans le char.

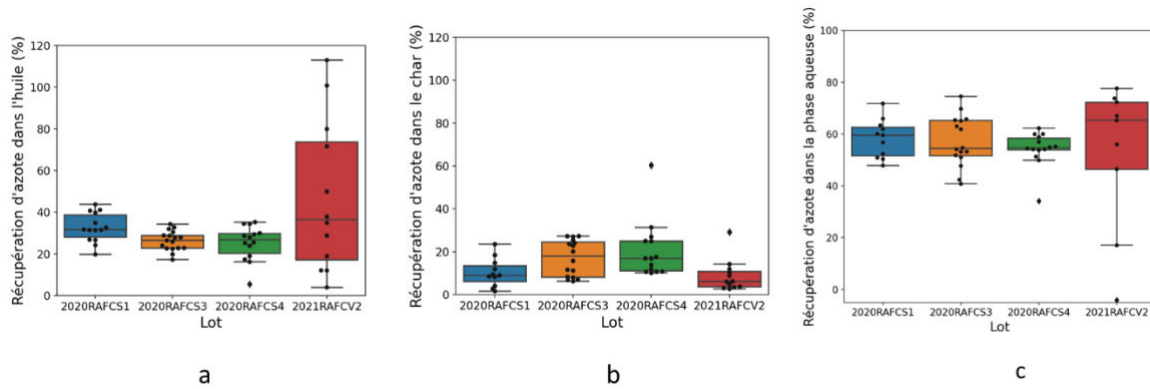


Figure III-5 : Répartition de l'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) pour différents lots de micro-algues

La composition de la biomasse a un effet sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote dans les différentes phases, cela s'explique par des différences en termes de réactivité. Autrement dit, pour des biomasses de composition différentes, les réactions principales ne seront pas les mêmes pendant l'HTL. La variation du pH entre la solution algale avant conversion et la phase aqueuse récupérée après HTL, représentée en Figure III-7, permet de le montrer. Une augmentation du pH est synonyme de formation de molécules azotées basiques dans la phase aqueuse (principalement de l'ammonium comme illustré en Figure III-6), autrement dit de réactions de désamination. Alors qu'une baisse du pH indique une acidification du milieu, montrant la présence de réactions de décarboxylation (menant à la dissolution de CO_2 dans l'eau) ou de dégradation des polysaccharides menant à la formation d'acides.

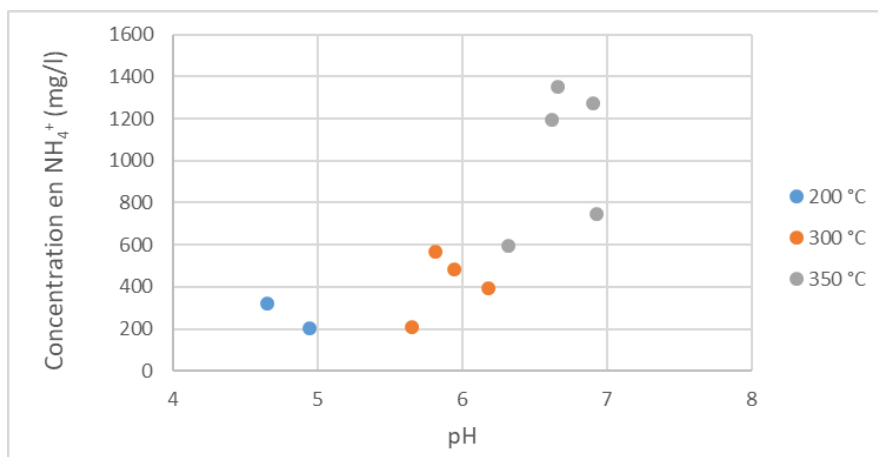


Figure III-6 : Concentration en ammonium (NH_4^+) en fonction du pH de la phase aqueuse issus des essais sur 2021RAFVC2 à 200, 300 et 350 °C

D'après la Figure III-7, le pH initial de la biomasse varie entre 5,8 et 6,6, cela peut être dû à la conservation des biomasses (alternance congélation/décongélation) qui a pu affecter leur qualité. Le comportement le plus marquant est observé pour 2020RAFCS1 où on a une augmentation du pH de la phase aqueuse après HTL. C'est la biomasse la plus riche en protéines, les réactions de désamination sont donc majoritaires [12], cela est vérifié sur la Figure III-4. 2020RAFCS3 et 2021RAFCV2 ont un taux de lipides plus élevé que 2020RAFCS4 et on observe parallèlement une baisse du pH pour ces deux biomasses après HTL, on peut donc penser que l'acidification du milieu est principalement dû aux décarboxylations des acides gras ou à l'hydrolyse des carbohydrates.

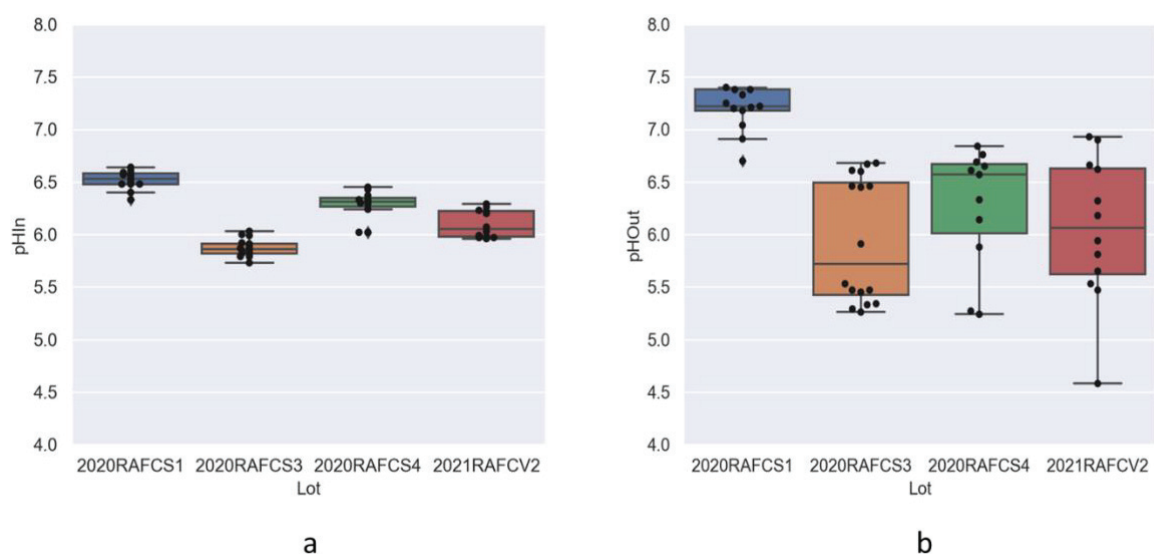


Figure III-7 : Évolution du pH entre **a** : les solutions algales de départ (pHIn) et **b** : la phase aqueuse après HTL (pHOut)

1.3. Conclusion

Il existe donc un lien étroit entre la composition de la biomasse et les produits obtenus. Le lot riche en lipides (comme 2021RAFCV2) permet d'atteindre le rendement massique en bio-huile le plus haut (~60 %) et l'azote, initialement présent sous forme de protéines, se retrouve principalement dans la bio-huile sous forme d'amides (à hauteur de 2 %). Une biomasse riche en protéines (comme 2020RAFCV1) est reliée à un rendement élevé (~45 %) mais également à un fort taux d'azote dans la bio-huile (~5,8 %) (dû au fort taux de protéines). Et l'utilisation d'une biomasse riche en carbohydrates (comme 2020RAFCS3 ou 2020RAFCS4) mène à un rendement en bio-huile plus faible (~30 %) et à un taux d'azote

élevé à la fois dans la bio-huile (~3,5 %) et dans le char qui est dû aux réactions de Maillard et de condensation.

L'objectif étant à la fois de limiter le taux d'azote dans la bio-huile et d'avoir un haut rendement massique en bio-huile, la biomasse idéale serait donc une biomasse carencée en azote et produisant des lipides, telle que *C. vulgaris*. Cependant, comme observée en Figure III-2 et Figure III-4 pour 2020RAFCS1 et 2021RAFCV2, le rendement en bio-huile et le taux d'azote dépendent fortement des conditions opératoires utilisées. La seconde partie de ce chapitre étudie ces variations afin de comprendre comment se comporte ces différentes biomasses en fonction des conditions d'HTL. Cela nous permettra par la suite d'ajuster les paramètres opératoires en vue d'obtenir un rendement élevé et un faible taux d'azote.

2. Effets des paramètres de liquéfaction hydrothermale sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote dans la bio-huile

L'étude paramétrique est une étape nécessaire à la compréhension du comportement global des micro-algues en conditions d'HTL. Le but de cette étude est d'avoir une idée des conditions optimales en termes de température, temps de séjour et taux de matière organique pour avoir un haut rendement en bio-huile et un faible taux d'azote dans la bio-huile. Cette étude a été réalisée sur deux lots de *C. sorokiniana*, l'un ayant été cultivé en conditions normales (2020RAFCS1) et l'autre en carence d'azote (2020RAFCS3), ce qui implique une composition différente, notamment sur le taux de lipides et de protéines. Le comportement de *C. vulgaris* a également été étudié à travers les résultats des essais du deuxième plan d'expérience (voir Tableau II-11) afin de conclure sur le comportement d'une algue riche en lipides. Cependant, l'effet du taux de matière organique sur ce lot n'a pas été étudié. La Figure III-1 rappelle la composition de ces lots.

2.1. Etude du lot riche en protéines

La Figure III-8 montre que les paramètres d'HTL dans la gamme paramétrique du plan d'expérience n°1 (voir Tableau II-9) ont peu d'influence sur le rendement en bio-huile produite à partir de la biomasse 2020RAFCS3 (riche en carbohydrates), contrairement à 2020RAFCS1 (riche en protéines). La méthode de calcul de l'effet moyen de chaque paramètre est détaillée

dans le Chapitre II5.1. La différence entre ces deux biomasses en termes de composition est le taux de carbohydrates. On a vu précédemment que les carbohydrates contribuent peu au rendement en bio-huile par rapport aux protéines et lipides et on voit ici que même en faisant varier les paramètres d'HTL, il y a peu de variation du rendement en bio-huile pour 2020RAFCS3. Nous choisissons donc d'étudier plus en détail l'influence des paramètres opératoires sur la biomasse 2020RAFCS1, riche en protéines.

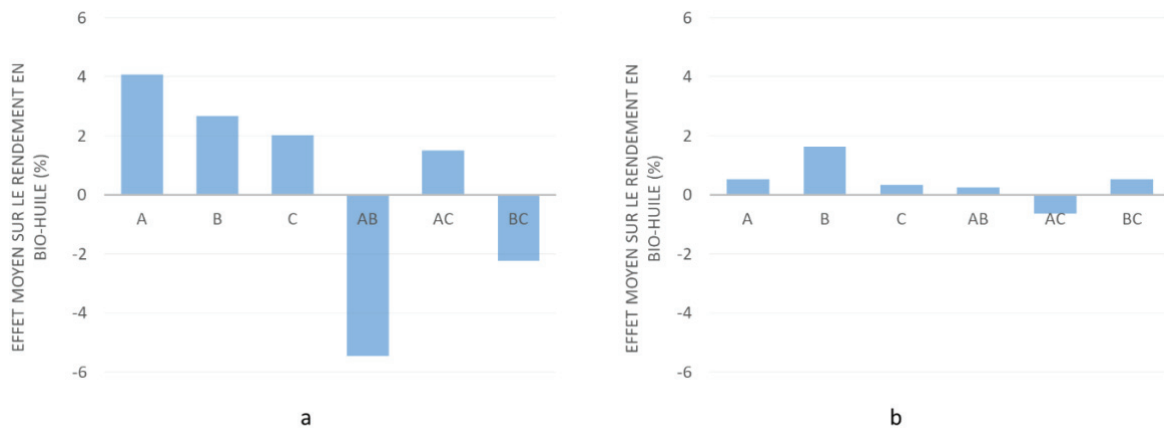


Figure III-8 : Effet moyen de A : la température, B: le temps de séjour, C: le taux de MO et les interactions correspondantes sur le rendement en bio-huile pour a : 2020RAFCS1 et b : 2020RAFCS3

Pour le lot 2020RAFCS1, on observe, en Figure III-8, un effet positif de la température, du temps de séjour et du taux de MO sur le rendement en bio-huile, ces effets ont également été montrés par d'autres auteurs [10,14–16]. Cependant, il existe une interaction négative significative entre le temps de séjour et la température (interaction AB). Autrement dit, l'augmentation de la température et du temps de séjour en même temps mène à diminution du rendement en bio-huile. Dans un objectif d'optimisation du rendement, il est donc plus intéressant de travailler soit à faible température et long temps de séjour, soit à haute température et faible temps de séjour pour cette composition. Dans notre cas le rendement le plus élevé (~60 %) est atteint à 350 °C et 5 min pour un taux de matière organique de 17 % (Figure III-9).

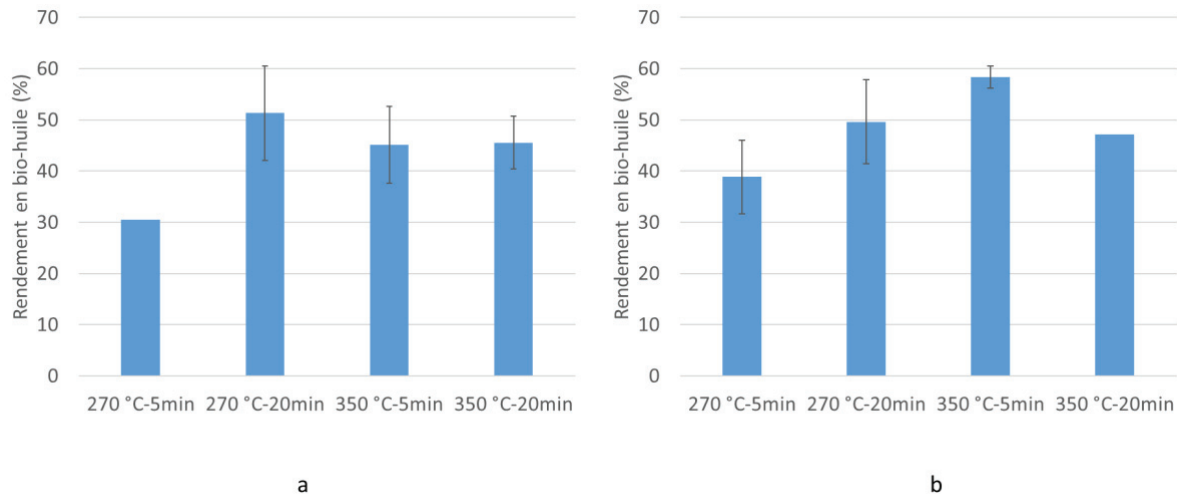


Figure III-9 : Évolution des rendements en bio-huile issues d'HTL de 2020RAFCS1 en fonction des conditions opératoires (température et temps de séjour) pour **a** : 10 % de MO et **b** : 17% de MO

La Figure III-10 illustre bien la baisse du rendement en bio-huile en augmentant à la fois la température et le temps de séjour. Parallèlement, on observe une production de gaz et de char au détriment de la formation de bio-huile, comme démontré dans l'étude de He et al.(2020) [10]. On observe 5 fois plus de gaz produit à 350 °C et 20 min qu'à 270°C et 20 min. Celui-ci étant composé à plus de 95 % de CO₂ [14], l'augmentation observée proviendrait de la décarboxylation des acides aminés ou des acides gras. Le char pourrait être formé, entre autres, par condensation des molécules azotées issues de réactions de Maillard entre polysaccharides et protéines [4] ou par condensation des molécules polycycliques oxygénées issues de la dégradation des carbohydrates. On a donc globalement, une réactivité plus orientée vers les réactions de condensations et de décarboxylation à haute température et aux longs temps de séjour, ce qui réduit le rendement en masse de bio-huile. Cependant, comme exposé en Figure III-7, le pH ne varie pas beaucoup avec la température pour 2020RAFCS1 (faible dispersion des valeurs). Les valeurs restent élevées donc, en raison de la forte teneur en protéines, la majorité des réactions sont des réactions de désamination des acides aminés. Même à haute température, les décarboxylations n'abaissent pas le pH.

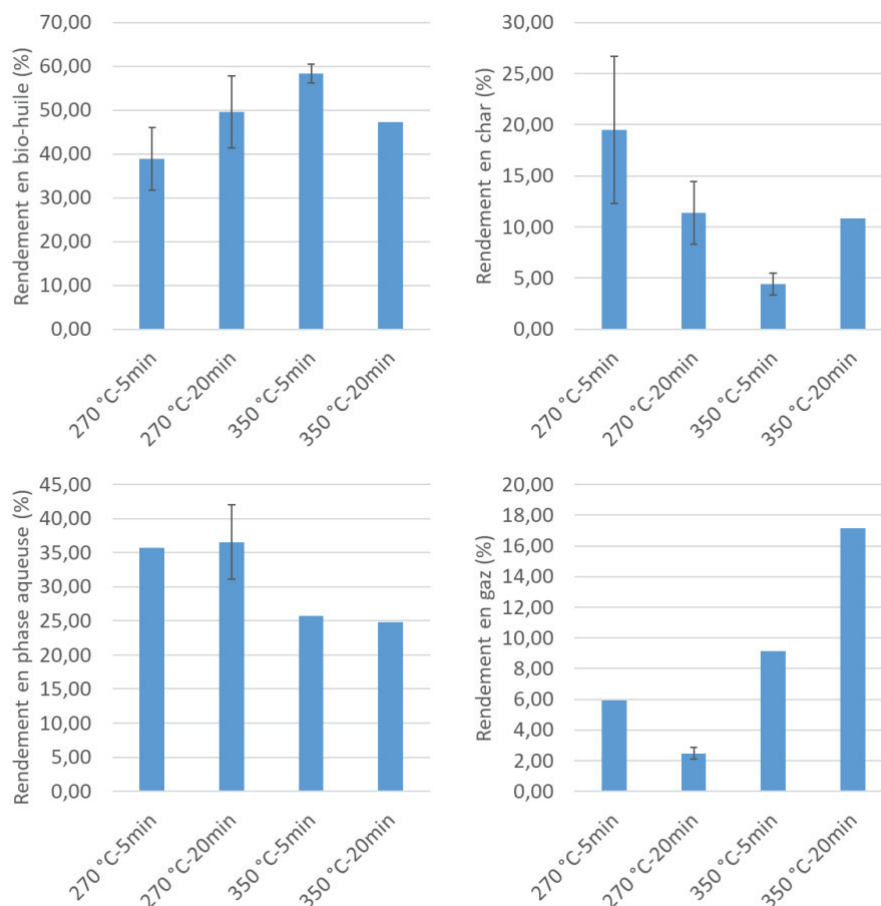


Figure III-10 : Effet de l'augmentation de la température et du temps de séjour sur le rendement des produits d'HTL à 17 % de MO (2020RAFCS1)

On observe également sur la Figure III-11 que le pourcentage d'azote dans la bio-huile dépend des conditions de l'HTL, tous les effets principaux et interactions sont significatives au seuil de 10 % (test de Student). Une augmentation de la température, du temps de séjour et du taux de matière organique dans le réacteur diminue le taux d'azote dans la bio-huile. Par exemple, en passant d'une température de 310 à 350 °C la quantité d'azote dans la bio-huile diminue de 1 %. De même lorsque l'on considère l'interaction AB. Ce qui est cohérent avec la précédente hypothèse concernant le passage des molécules polycycliques azotées dans le char avec la température et le temps de séjour.

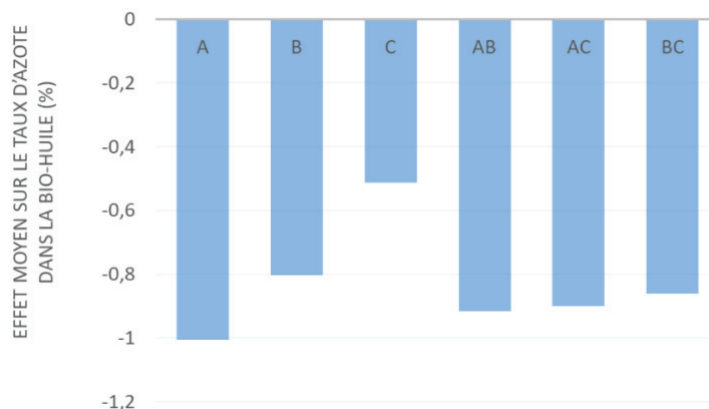


Figure III-11 : Effet moyen de **A** : la température, **B** : le temps de séjour, **C** : le % de MO et les interactions correspondantes sur le taux d'azote dans la bio-huile (%)

Finalement, le rendement en bio-huile obtenu suite au traitement du lot riche en carbohydrates (2020RAFCS3) montre peu de variations en fonction des paramètres mais quand on considère celui riche en protéines (2020RAFCS1), on observe une forte interaction entre la température et le temps de séjour. Un temps de séjour court et une haute température sont des conditions favorables pour atteindre un haut rendement et un faible taux d'azote.

2.2. Étude du lot riche en lipides

Des essais à différents temps de séjour (0, 5, 10, 20 et 30 min) et températures (250, 300 et 350 °C) ont été réalisées sur le lot 2021RAFV2, la Figure III-12 montre l'évolution des rendements des différents produits. Contrairement aux lots étudiés précédemment, le temps correspondant à la rampe de température a été pris en compte et une température intermédiaire de 300 °C et 5 temps de séjour par température ont été testés. On observe que les rendements en bio-huile les plus élevés sont obtenus à 300 °C et que l'optimum est atteint après 10 min de réaction (soit 30 min de temps expérimental) au palier de température avec ~70 % de rendement massique en bio-huile (Figure III-12, a). Comme dans le cas du lot riche en protéines, on observe une baisse du rendement en bio-huile lorsque la température et le temps de séjour augmentent, alors que le rendement en gaz augmente. Cependant, contrairement à 2020RAFCS1, on observe une diminution du rendement en char avec le temps et la température et une augmentation du rendement en phase aqueuse.

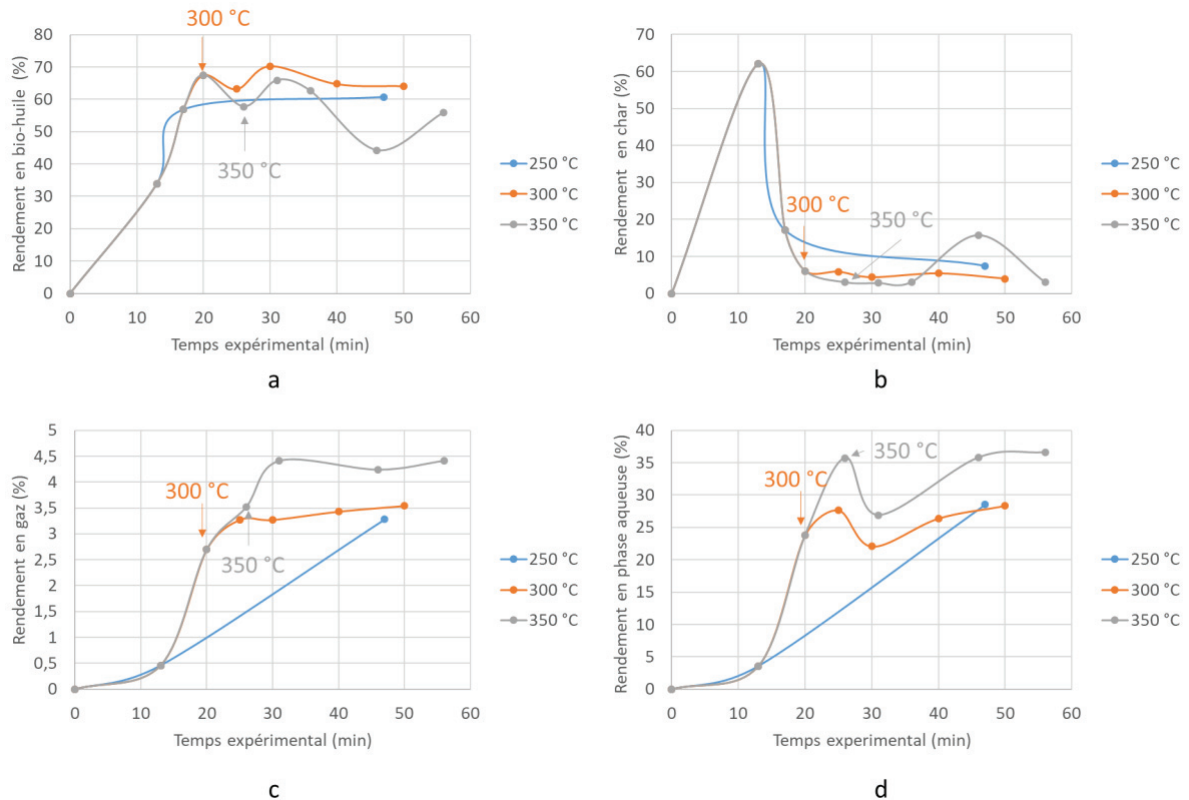


Figure III-12 : Évolution du rendement massique des produits (a : bio-huile, b : char, c : gaz, d : phase aqueuse) issus de l'HTL de 2021RAFCV2 en fonction du temps et de la température (début du palier à 300 °C au bout de 20 min ; début du palier à 350 °C au bout de 26 min)

L'évolution du taux d'azote dans les différentes phases (Figure III-13) a été observé afin de comprendre ce comportement. Seul le taux d'azote dans le gaz n'est pas donné, car il n'est pas analysé dans notre cas et mais il faut noter que Ross et al. ont identifié du HCN, N_2O et NO_x [17]. On observe notamment une augmentation du taux d'azote dans la bio-huile (Figure III-13, a) et d'ammonium dans la phase aqueuse (Figure III-13, b) avec la température. On peut donc supposer, compte tenu de la composition de la biomasse riche en lipides, que la formation d'amides solubles dans la bio-huile avec rejet de CO_2 est favorisée à haute température. Cette observation est confirmée par l'augmentation du rendement en gaz (composé à 95 % de CO_2) avec la température (Figure III-12, c). On remarque également une hausse des ions ammonium en phase aqueuse avec la température qui confirme la présence de réaction de désamination des acides aminés comme proposé par Valdez et al.(2012) [14].

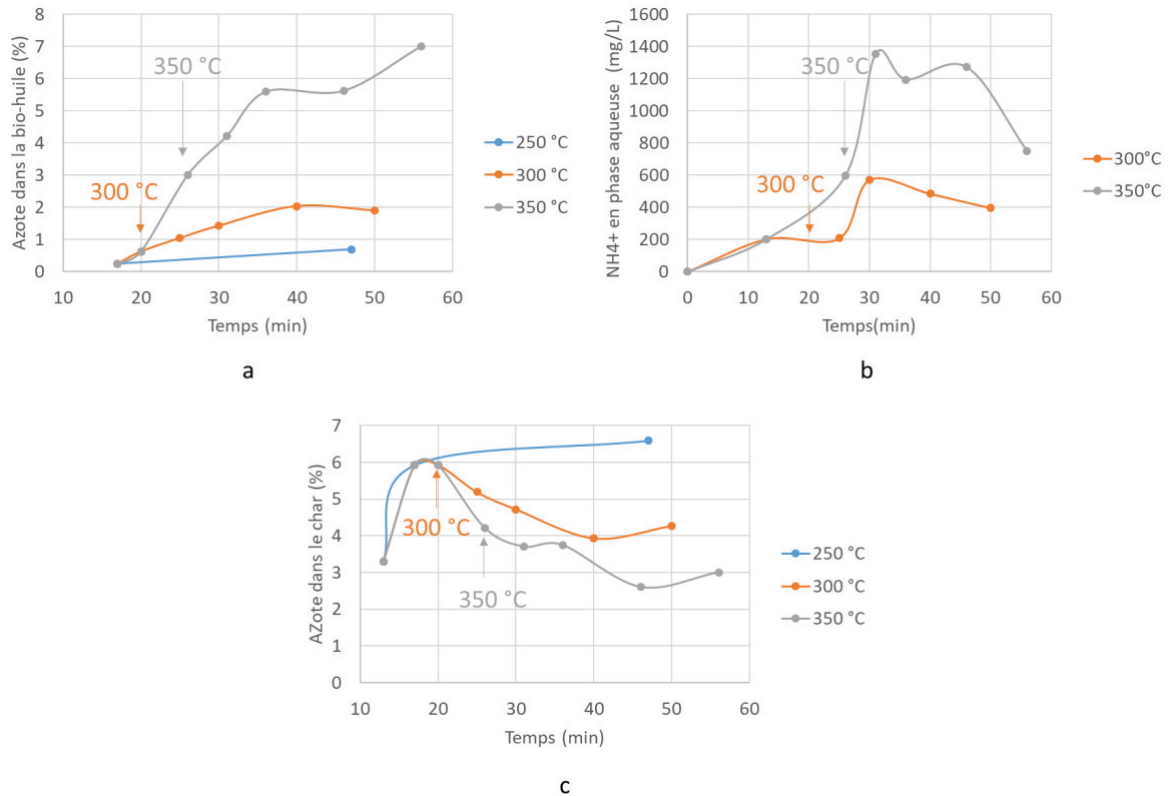


Figure III-13 : Évolution du taux d'azote dans les produits (a : bio-huile, b : phase aqueuse, c : char) issus de l'HTL de 2021RAFV2 en fonction du temps et de la température (début du palier à 300 °C au bout de 20 min ; début du palier à 350 °C au bout de 26 min)

De plus, l'augmentation du rendement de la phase aqueuse et la diminution du rendement en char avec la température et le temps de séjour montre que les acides aminés forment des composés solubles en phase aqueuse (issus des désaminations ou décarboxylations) mais peu de composés de Maillard polymérisés dans le char. Les réactions de désamination ont également été confirmées par la hausse du pH [18] en fonction de la température pour les lots riches en lipides (2020RAFCS4 et 2021RAFV2) en Figure III-14. Cela vient de la faible proportion en carbohydrates dans la biomasse.

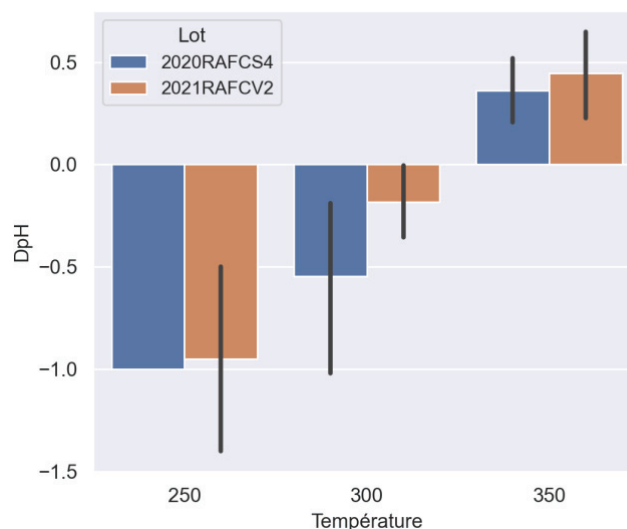


Figure III-14 : Variation du pH entre la phase aqueuse après HTL (pH_{Out}) et les solutions algales de départ (pH_{In}) ($DpH = pH_{Out} - pH_{In}$) en fonction de la température

Finalement, la formation d'amides dans la bio-huile a été prouvée lors d'une augmentation de la température et du temps de séjour pour un lot riche en lipides. Cela diminue le rendement en masse de la bio-huile car la masse molaire de l'azote est plus légère que celle de l'oxygène et augmente le taux d'azote global. De plus, on observe la présence de réactions de désaminations en augmentant la température et le temps de séjour mais cela n'est pas suffisant pour diminuer le taux d'azote dans la bio-huile. Donc si on souhaite augmenter le rendement massique en bio-huile et limiter le taux d'azote, les conditions optimales à appliquer sont une température de 300 °C pendant 10 min.

2.3. Conclusion

Pour chacune des biomasses, il est donc possible d'orienter la distribution des produits selon les conditions opératoires de l'HTL. Le rendement en bio-huile obtenu suite au traitement du lot riche en carbohydrates (2020RAFCS3) montre peu de variations en fonction des paramètres mais avec celui riche en protéines (2020RAFCS1), on observe une forte interaction entre la température et le temps de séjour qui diminue le rendement en bio-huile. Une haute température couplée à un long temps de séjour favorise les réactions de condensation et de décarboxylation. **On favorisera donc une température de 350 °C et un temps de séjour de 5 min pour les biomasses riches en protéines.** Dans le cas du lot riche en lipides (2021RAFCV2), l'augmentation de la température et du temps de séjour a tendance à diminuer le rendement massique en bio-huile et à augmenter le taux d'azote dans la bio-huile. Cela est dû à la production d'amides en dépit des acides gras. **On favorisera donc une**

température de 300 °C avec un temps de séjour de 10 min pour les biomasses riches en lipides. Cependant, il faut noter que, dans les deux cas, on ne considère pas le contenu énergétique des bio-huiles. Celui-ci est plus élevé dans le cas où il y a moins d'oxygène, soit quand on augmente la température et le temps de séjour. Hognon et al. mettent également en évidence ce point en montrant que le plus haut rendement massique en bio-huile n'est pas forcément relié au meilleur contenu énergétique [19].

Cette partie de l'étude paramétrique a été une première étape pour comprendre le comportement de différents lots de micro-algues en HTL lorsque la température, le temps de séjour et le taux de MO varient. La prochaine partie permet de confirmer et de détailler certaines de ces hypothèses sur le lot riche en protéines par l'étude des analyses GPC-SEC et GC-MS des bio-huiles.

3. Effet des paramètres de liquéfaction hydrothermale sur la réactivité : étude des analyses GPC-SEC et GC-MS

La partie précédente montre un effet de la température, du temps de séjour et du taux de matière organique sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote dans la bio-huile. Cependant, l'étude des rendements des différentes phases (tel que représenté en Figure III-10), ne permet pas de comprendre la réactivité associée à ces variations. Cette partie s'est donc intéressée aux analyses par GPC-SEC et GC-MS effectuées sur des échantillons de bio-huiles. Ce travail a été effectuée sur *C. sorokiniana* et plus particulièrement sur le lot 2020RAFCS1, montrant un comportement différent selon la température, le temps de séjour et le taux de matière organique.

3.1. Effet de la température et du temps de séjour sur la réactivité : étude du lot 2020RAFCS1

Le comportement à basse et haute température au cours du temps et pour deux taux de matière organique est étudié séparément par GPC-SEC afin de mieux comprendre la réactivité dans ces conditions.

Sur la Figure III-15, on observe un comportement similaire à 10 et 17 % de MO à 270 °C concernant l'évolution du rendement en bio-huile et en char qui augmente et diminue, respectivement. Les variations en termes de réactivité sont visibles à 17 % de MO sur l'analyse GPC-SEC de la bio-huile. On voit que la masse moléculaire moyenne dans la bio-huile (M_w) augmente avec le temps (Tableau III-1). L'augmentation du rendement est donc liée à une hausse du poids moléculaire de la bio-huile. Cependant, la formation de gaz n'est pas observée, les réactions de décarboxylation ne sont donc pas présentes. Des réactions de condensation ont donc lieu dans la bio-huile. Finalement, que ce soit à 10 ou à 17 % de MO, l'augmentation du rendement massique en bio-huile est principalement dû aux réactions d'hydrolyse des lipides, des protéines et des carbohydrates. Cette observation est confirmée par Torri et al. [20] qui montre, à basse température, la présence de polymère d'alcane linéaires, dérivés des algeans ou des acides gras et de polypeptides dus à la dépolymérisation des protéines. Cependant, à 17 % de MO, des réactions de condensation entre ces molécules apparaissent.

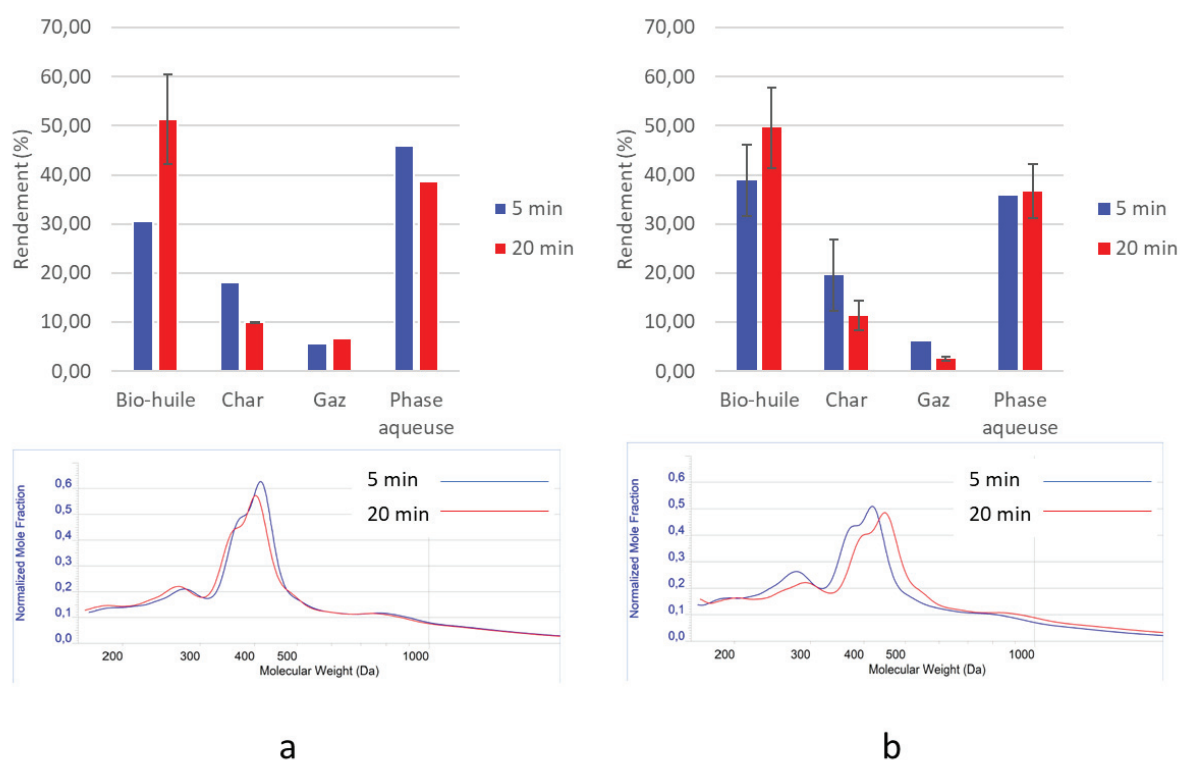


Figure III-15: Évolution des phases et de l'analyse GPC-SEC au cours du temps ($T = 270$ °C) lors de la conversion du lot 2020RAFCS1 avec 10 % de MO (a) et 17 % de MO (b)

Tableau III-1 : Masse moléculaire moyenne (M_w) et en nombre (M_n) issues de l'analyse GPC-SEC des bio-huiles à 270 °C

	10 % de MO		17 % de MO	
	M_w^*	M_n^*	M_w	M_n
5 min de ts	1034	520	857	472
20 min de ts	936	500	1463	547

*Masse en Da eq. Polystyrène

A 350 °C et 10 % de MO, peu de changements sont observés quant à l'évolution des phases au cours du temps (Figure III-16, a). La masse moléculaire moyenne de la bio-huile augmente légèrement comme observé à 270 °C, ce qui montre la formation de composés à haut poids moléculaire. Cependant, à 17 % de MO, le rendement en bio-huile diminue parallèlement avec l'augmentation du rendement en char et en gaz. On observe également une baisse de la masse moléculaire moyenne de la bio-huile, de 877 à 660 Da (eq. Polystyrène) (Tableau III-2). On peut donc supposer que les composés présents dans la bio-huile réagissent ensemble au cours du temps et forment des molécules avec un poids moléculaire suffisamment haut pour augmenter le rendement en char, comme les mélanoïdines [20].

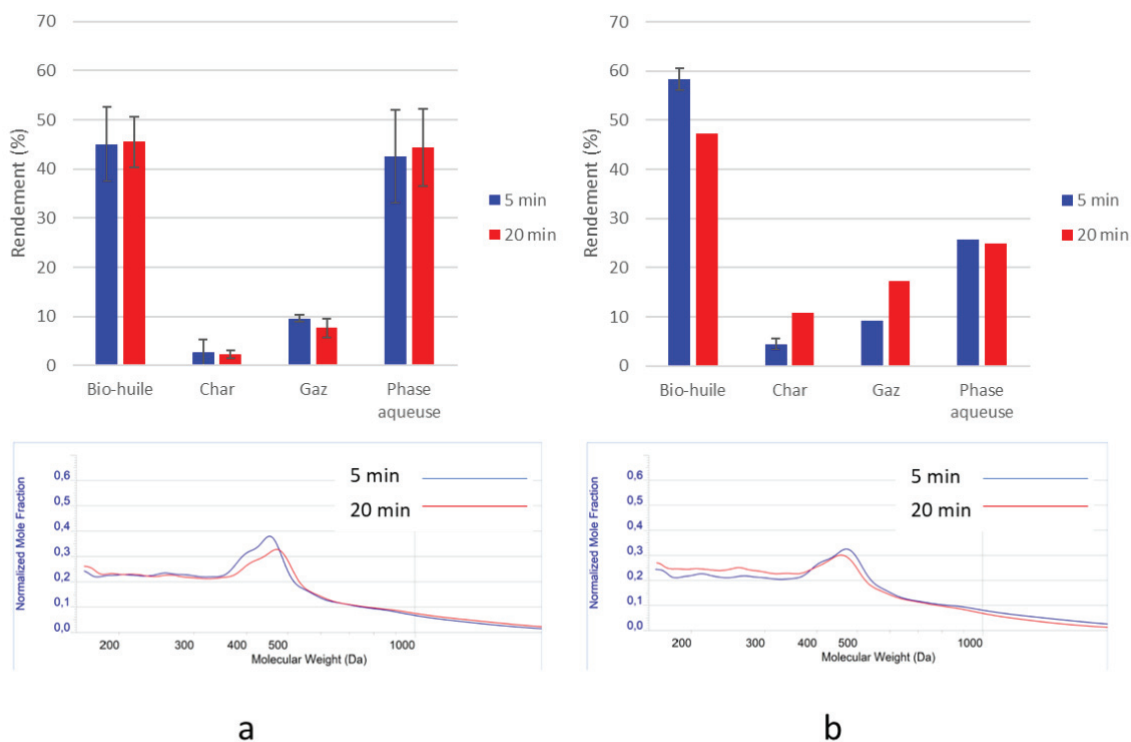


Figure III-16 : Évolution des phases et de l'analyse GPC-SEC au cours du temps ($T = 350$ °C) lors de la conversion du lot 2020RAFCS1 avec 10 % de MO (a) et 17 % de MO (b)

Tableau III-2 : Masse moléculaires moyenne (M_w) et en nombre (M_n) issues de l'analyse GPC-SEC des bio-huiles à 350 °C

	10% de MO		17% de MO	
	M_w^*	M_n^*	M_w	M_n
5 min de ts	686	434	877	479
20 min de ts	808	460	660	422

*Masse en Da eq. Polystyrène

Finalement, à 270 °C, le rendement augmente au cours du temps alors qu'à 350 °C, il reste stable ou diminue. On peut donc supposer qu'à 270 °C, la cinétique des réactions de formation de bio-huile (hydrolyse des lipides, protéines, formation de molécules cycliques azotées/oxygénées) est lente, les temps de séjour long favorisent donc la formation de bio-huile. Alors qu'à 350 °C, les premières réactions d'hydrolyse se sont déjà produites et des réactions de cyclisation ou condensation apparaissent pour former du char, en dépit de la formation de bio-huile [14]. Cela confirme donc l'hypothèse évoquée en partie 2.1 et le fait que des temps de séjour courts aux hautes températures favorisent un haut rendement en bio-huile.

3.2. Effet du taux de matière organique sur la réactivité : étude du lot 2020RAFCS1

Selon l'étude paramétrique, le taux de matière organique a un effet positif sur le rendement en bio-huile (voir Figure III-8). A 270 °C, la différence de réactivité est peu significative entre 10 et 17 % de MO. Cependant, à 350 °C, le comportement réactionnel est différent selon la charge de biomasse insérée dans le réacteur. Comme expliqué dans la partie précédente (3.1), à forte concentration, on observe des réactions de condensation. Cela peut être dû au contact plus élevé entre les molécules qui favorise les réactions intermoléculaires comme les réactions de Maillard menant par la suite à la formation de molécules polycycliques azotées [14]. Cette hypothèse est confirmée avec la Figure III-17 qui représente l'évolution au cours du temps (à 350 °C) des principales molécules pouvant se condenser (voir Chapitre I) et former des molécules polycycliques. A 10 % de MO, ces molécules disparaissent au cours du temps et commencent à se condenser comme observé avec l'augmentation du poids moléculaire dans la bio-huile (Tableau III-2). A 17 % de MO, leur proportion dans la bio-huile augmente. On peut supposer que le fait d'augmenter la quantité de réactifs, déplace l'équilibre réactionnel vers la formation de produits de Maillard ce qui va par la suite favoriser la formation de composés à haut poids moléculaire dans la phase solide. A 10 % de matière organique, la quantité de composés cycliques produite est trop peu importante pour former du char.

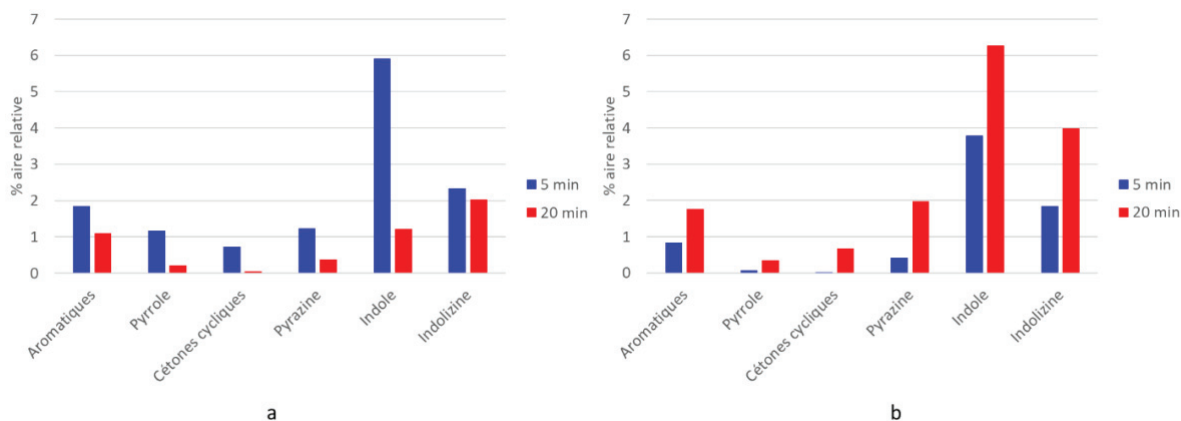


Figure III-17 : Évolution au cours du temps des molécules azotées pouvant mener à la formation de composés à haut poids moléculaire pendant l'HTL à un taux de 10 % de MO (a) et de 17 % de MO (b) ($T = 350\text{ °C}$)

De plus, afin de confirmer l'origine des molécules menant à la production de char chez 2020RAFCS1, l'évolution des rendements des produits pour 2020RAFCS3 a été représentée en Figure III-18. En effet, pour le lot 2020RAFCS3, riche en carbohydrates, aucune réaction de condensation n'est observée à 10 et 17 % de MO (pas d'évolution du rendement en char au cours du temps), on peut donc déduire que la production de char observée pour 2020RAFCS1 est due à la condensation des molécules azotées dégradées lors de l'hydrolyse des protéines ou des réactions de Maillard et pas à celle des molécules oxygénées venant de l'hydrolyse des carbohydrates.

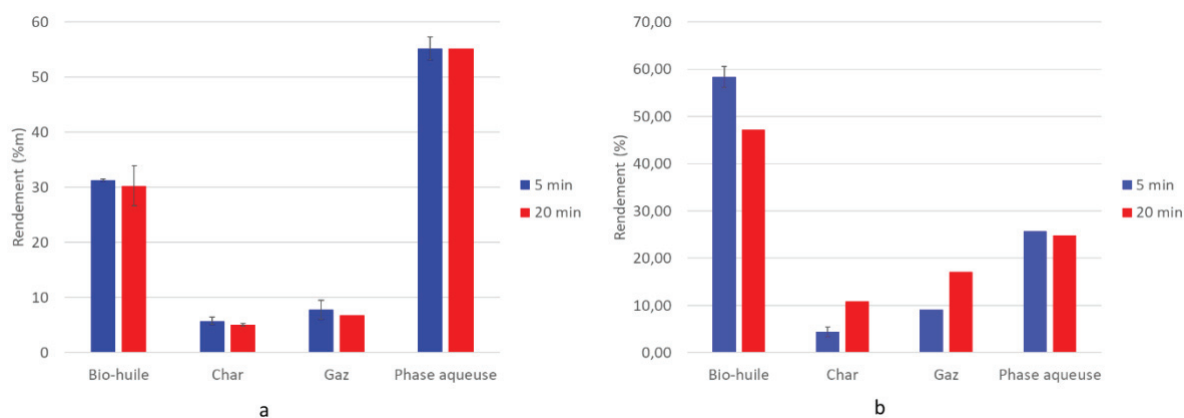


Figure III-18 : Évolution des distributions de produits issus de l'HTL ($T = 350\text{ °C}$) de 2020RAFCS3 au cours du temps à a : 10 % de MO et b : 17 % de MO

Finalement, comme montré en partie 2.1 sur la Figure III-9, le rendement en bio-huile est amélioré avec un taux de matière organique élevé mais seulement aux temps de séjours courts. Lorsqu'un long temps de séjour est appliqué, des molécules issues des produits de Maillard sont formées et on observe la production de char en dépit de la bio-huile.

3.3. Conclusion

Cette partie s'est focalisé sur l'étude de la réactivité du lot riche en protéines (2020RAFCS1) en conditions de liquéfaction hydrothermale. Le comportement des bio-huiles a été observé par GPC-SEC et GC-MS au cours du temps, de la température et du taux de matière organique afin de confirmer les hypothèses émises en partie 2.1. Ces analyses ont confirmé qu'à haute température, des réactions de condensation apparaissent au cours du temps et qu'un taux élevé de matière organique dans le réacteur favorise un haut rendement en bio-huile aux faibles temps de séjour. Cette étude n'a pas été réalisée pour le lot riche en lipides mais la même démarche pourrait être faite pour observer la formation des produits de condensation (issus des réactions de Maillard ou de cyclisation des amides).

La partie suivante s'intéresse aux essais réalisés en réacteur continu. Elle va permettre de comparer le comportement de la biomasse observé dans ces trois premières parties en réacteur batch et son comportement en réacteur continu.

4. Application aux essais continus

Trois lots ont été utilisés pour réaliser des essais en continu, leur composition est rappelée en Figure III-19. Pour comparaison, un essai batch a également été réalisé sur 2021RAFVCV1. Les lots 2020RAFCS2 et 2021RAFVCV1 ont tous deux été carencés mais l'un est issu de l'espèce *C. sorokiniana* et l'autre de *C. vulgaris*, on peut donc comparer l'effet de la composition de la biomasse et de l'espèce sur le rendement et le taux d'azote dans la bio-huile à échelle pilote. Le dernier lot étudié (2021RAFVCV3) est similaire à au lot 2021RAFVCV1 et permet donc de s'intéresser à l'effet des paramètres de l'HTL sur le rendement et le taux d'azote dans la bio-huile.

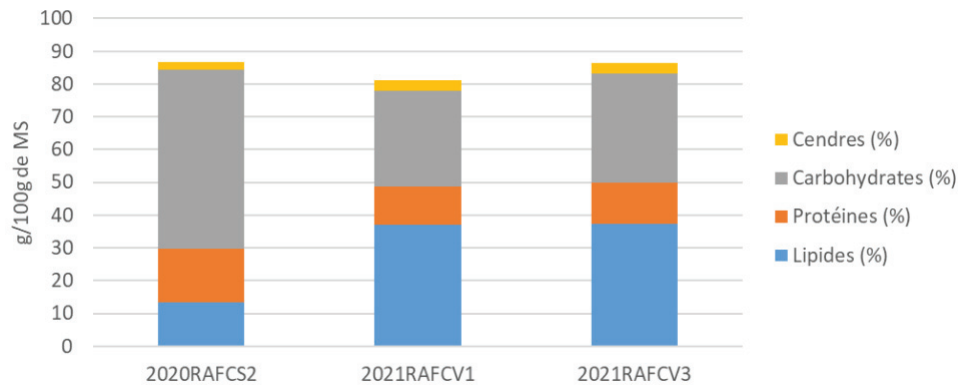


Figure III-19: Rappel de la composition biochimique des lots de micro-algues

4.1. Comparaison batch et continu

Un comparatif entre un essai batch et un essai en continu, pour *C. sorokiniana* et pour *C. vulgaris*, a été réalisé pour vérifier que les observations faites en batch peuvent être appliquées au procédé en continu. Les rendements obtenus après un essai à 300 °C, pendant 15 min à un taux de 10 % de matière organique en batch et en continu sont représentés en Figure III-20. Dans le cas de *C. sorokiniana*, l'essai batch est nommé RAF 54 (Tableau II-13) et l'essai continu a été fait en duplicat (RAF 11 et RAF 17) (Tableau II-12). Dans le cas de *C. vulgaris*, l'essai batch est RAF 50 (Tableau II-13) et l'essai continu est RAF 47 (Tableau II-12). Une différence d'un peu plus de 10 % entre les rendements en bio-huile obtenus pour les deux procédés est observée pour les essais avec *C. sorokiniana* mais seulement 5 % pour les essais avec *C. vulgaris* (Figure III-20, a). Cela peut s'expliquer par la formation de composés de Maillard favorisée avec une biomasse riche en protéines et lorsque la phase aqueuse est en contact avec la bio-huile, ce qui est le cas dans le réacteur batch. La rampe de température peut également favoriser la formation de composés de Maillard dans le cas du batch. Cela est confirmé par la proportion en char, bien plus élevée dans le cas des essais en batch que pour les essais en continu (Figure III-20, b).

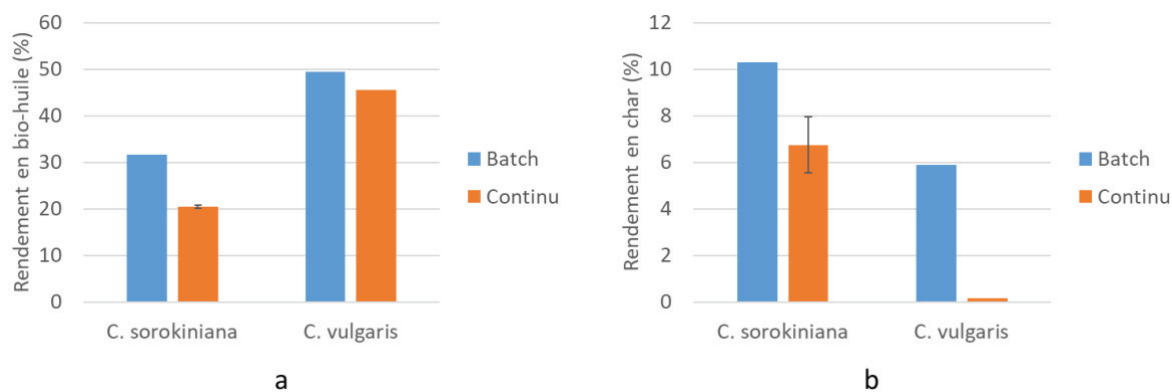


Figure III-20 : Comparaison du rendement en bio-huile (a) et en char (b) pour un procédé batch et continu ($T = 300\text{ °C}$, $t = 15\text{ min}$, $\%MO = 10$)

La mesure du taux d'azote dans les différentes phases pour le procédé en batch et en continu est représenté en Figure III-21. L'erreur est calculée par l'écart-type entre les duplicats ou triplicats des mesures réalisées par CHNS sauf pour l'essai continu de *C. sorokiniana* où l'écart-type est calculé entre les deux valeurs de taux d'azote des essais. Dans la bio-huile, on remarque que le taux d'azote est plus faible en continu dans le cas de *C. sorokiniana*, ce qui s'explique par la formation de composés de Maillard azotés (non condensés) en batch comme expliqué précédemment. Concernant le taux d'azote dans le char, on observe pour *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* qu'il diminue en procédé continu, ce qui confirme qu'il y a plus de réactions de condensation dans le réacteur batch menant à la formation de composés azotés dans le char. Dans la phase aqueuse, le taux d'azote est également plus faible en continu, on peut donc supposer qu'il y a plus de désamination dans le cas du batch ou plus de transfert de molécules azotées de la bio-huile ou du char vers la phase aqueuse dû au contact plus long entre ces phases pendant le procédé batch.

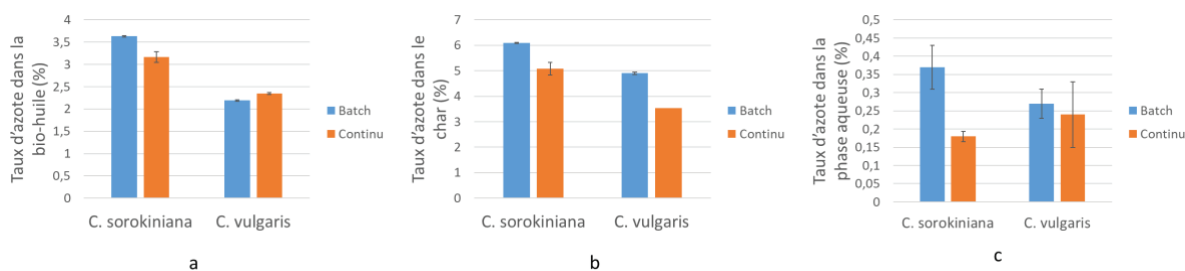


Figure III-21 : Comparaison du taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) issus d'HTL en batch et en continu pour *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*

4.2. Effet de la composition de la biomasse

La Figure III-22 compare les rendements massiques en bio-huile obtenus suite aux essais en continu sur *C. sorokiniana* à 300 °C, 15 min et 10 % de MO avec celui obtenu suite à un essai continu de *C. vulgaris* réalisé dans les mêmes conditions opératoires. Comme observé en partie 1.1, on remarque une hausse du rendement avec *C. vulgaris*, plus riche en lipides, le rendement en bio-huile est doublé. De la même manière que pour les essais batch, cela confirme l'influence positive des lipides sur le rendement en bio-huile.

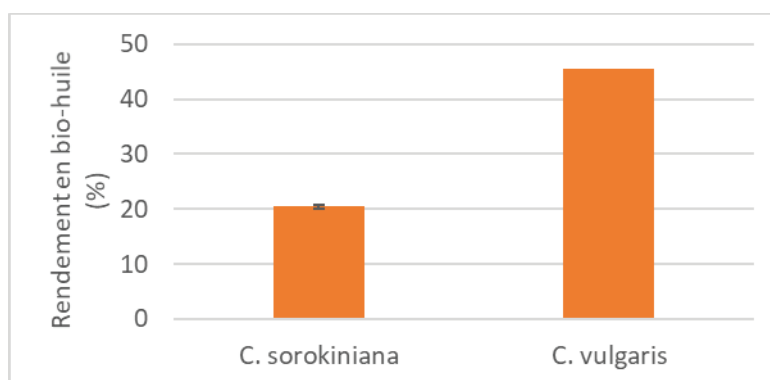


Figure III-22 : Comparaison du rendement en bio-huile pour *C. sorokiniana* (2020RAFCS2) et *C. vulgaris* (2021RAFCV1) ($T = 300\text{ °C}$, $t = 15\text{ min}$, Taux de MO = 10 %)

La Figure III-23 compare le taux d'azote dans les différentes phases pour les essais avec ces deux micro-algues. Le taux d'azote dans la bio-huile et dans le char est plus faible pour *C. vulgaris* étant donné la plus faible proportion de protéines. L'écart-type de la mesure en phase aqueuse est très élevé, mais on peut supposer qu'il y a plus d'azote en phase aqueuse pour *C. vulgaris* car, aux vues de la faible teneur en carbohydrates par rapport à *C. Sorokiniana*, il y aura moins de réactions de Maillard donc plus d'ions ammonium libres en phase aqueuse.

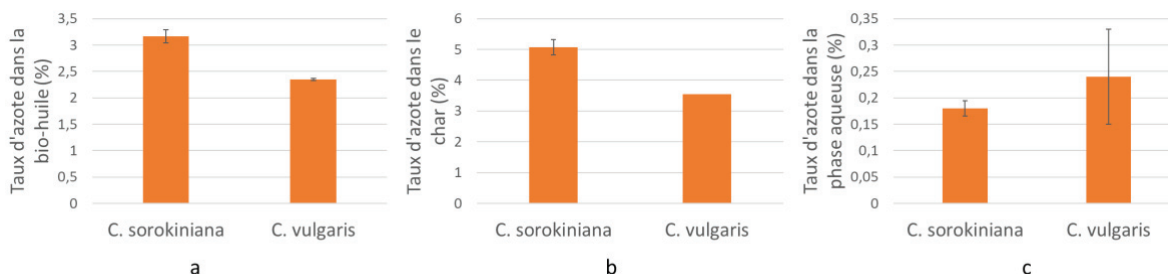


Figure III-23 : Comparaison du taux d'azote dans la bio-huile (a), le char (b) et la phase aqueuse (c) pour *C. sorokiniana* (2020RAFCS2) et *C. vulgaris* (2021RAFCV1) ($T = 300\text{ °C}$, $t = 15\text{ min}$, Taux de MO = 10 %)

Comme observé pour les essais en batch sur les diagrammes de Van Krevelen (partie 1.1), les comportements sont très différents entre *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*. Cela est d'autant plus visible sur le diagramme de Van Krevelen (Figure III-24), où les essais continus

(représentés par des ronds) ont été comparés avec les essais RAF 50 (sur 2020RAFCV1) et RAF 54 (sur 2020RAFCS3) réalisés en batch (représentés par des étoiles) dans les mêmes conditions (voir Tableau II-13). Pour *C. sorokiniana*, on observe principalement une baisse du ratio H/C, moins marquée en batch. Ce qui indique la présence de réaction de cyclisation au cours de la réaction. *C. vulgaris* se comporte de la même manière qu'en batch et contrairement à *C. sorokiniana*, on observe une augmentation notable du ratio H/C. Comme évoqué précédemment, celle-ci est probablement due aux réactions de décarboxylation. De plus, la désoxygénation observée pour l'essai en continu sur 2020RAFCS2 est du même ordre de grandeur que celle observée pour l'essai en batch.

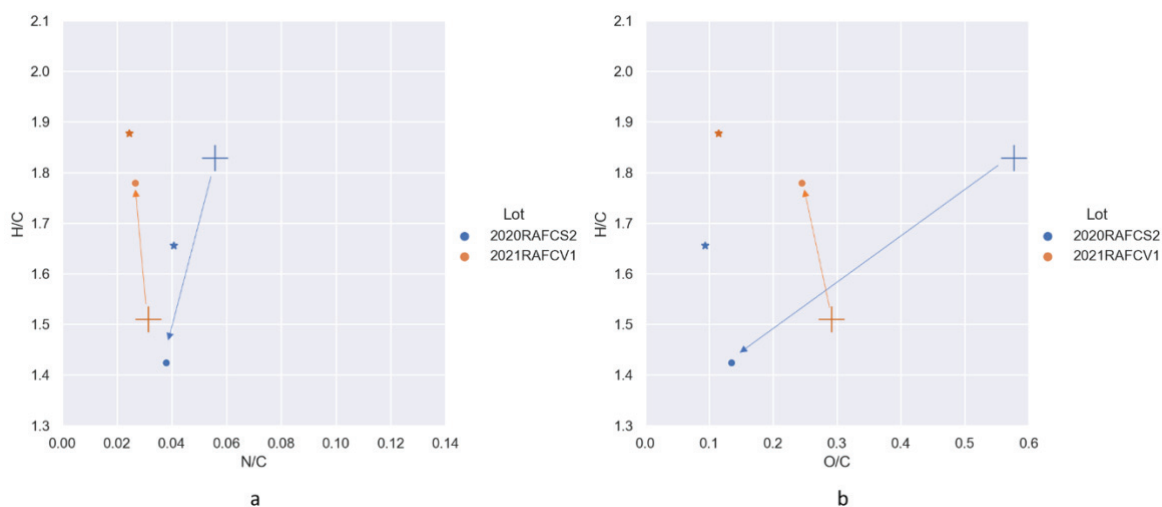


Figure III-24 : Comparaison des essais sur *C. sorokiniana* (2020RAFCS2) et *C. vulgaris* (2021RAFCV1) avec le diagramme de Van Krevelen des bio-huiles produites en continu (rond) et en batch (étoile) en comparaison avec la biomasse de départ (croix) ; a : H/C en fonction de N/C et b : H/C en fonction de O/C (ratios molaires)

4.3. Effet des paramètres de l'HTL

Comme observé précédemment, les conditions optimales pour l'algue riche en lipides semblent être une température de 300 °C et un temps de séjour de 10 min, cependant, ce sont les conditions habituellement appliquées en continu. En vue des observations faites en batch sur l'algue riche en protéines, les paramètres du procédé en continu ont été ajustés et notamment la température. Un essai avec *C. vulgaris* (2021RAFCV3) a été réalisé à 340 °C (température max possible). Celui-ci peut être comparé à l'essai réalisé à 300 °C réalisé sur *C. vulgaris* car les deux lots (2021RAFCV1 et 2021RAFCV3) ont une composition similaire. Cela permet d'évaluer l'effet du changement de température sur le rendement et le taux d'azote dans la bio-huile.

Les résultats sont présentés en Figure III-25. On remarque une augmentation du rendement en bio-huile, de 45,5 % à 48 % comme observé en batch. Cependant,

contrairement au batch, on observe une baisse du taux d'azote dans la bio-huile, de 2,45 à 1,43 %, en augmentant la température. Dans le cas d'une biomasse riche en lipides, les amides sont les principales molécules azotées formées donc on peut supposer que moins d'amides sont formées en continu qu'en batch. Par conséquent, la formation d'amides est favorisée par le contact prolongé entre les lipides et la phase aqueuse en batch. En continu, le temps de séjour effectif est plus court. La phase aqueuse est immédiatement séparée de la bio-huile en fin de réaction, il n'y a pas de rampe de température et on a une grande distribution de temps de séjour, les ions ammonium sont donc moins en contact avec les acides carboxyliques pour former des amides. Finalement, seule l'augmentation de la température a suffi à augmenter le rendement en bio-huile. Ces conditions semblent donc intéressantes pour le procédé en continu.

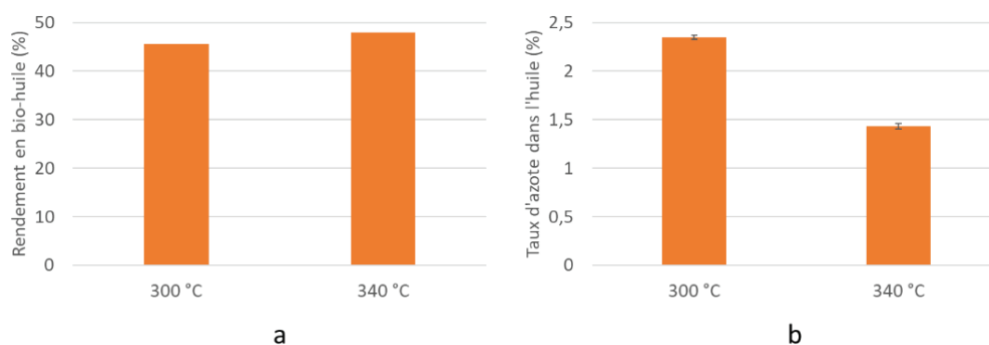


Figure III-25 : Effet de l'augmentation de la température sur le rendement massique en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b) pour un essai continu avec *C. vulgaris*

4.4. Conclusion

La comparaison d'un essai en batch avec des essais réalisés en continu a permis de conclure sur le fait que le temps de contact élevé et la rampe de température appliquée en batch favorise la présence de réactions de Maillard et de formation de char. De plus, l'observation faite en partie 1.1 en réacteur batch a été confirmée en continu, une biomasse riche en lipides permet de doubler le rendement par rapport à une biomasse riche en protéines. Cependant, contrairement aux observations faites en partie 2.2 en réacteur batch, le rendement en bio-huile est plus élevé à 340 °C qu'à 300 °C, et l'augmentation de la température diminue le taux d'azote en continu. On peut en déduire que, de la même manière que la formation des produits de Maillard en batch, la formation d'amides est favorisée avec le contact entre la phase aqueuse et la bio-huile et la rampe de température. Donc le procédé

en continu à haute température permet de produire une bio-huile à haut rendement (48 %) et avec un faible taux d'azote (~1,5 %)

Un travail d'optimisation des conditions en continu est encore à prévoir par rapport à l'augmentation du taux de matière organique et à la baisse du temps de séjour pour prendre en compte l'hydrodynamique du réacteur mais aujourd'hui, les installations et notamment les pompes sont limitantes. Les essais continus nécessitent aussi des quantités plus importantes de biomasse.

5. Schéma de synthèse

Le schéma de synthèse présenté en Figure III-26 résume les observations faites sur les effets de la température et du temps de séjour sur une biomasse riche en lipides et une biomasse riche en protéines. L'étude des effets, présentée en partie 2.1 montre que les paramètres opératoires influencent peu le rendement en bio-huile pour une algue riche en carbohydrates, son comportement n'a donc pas été étudié.

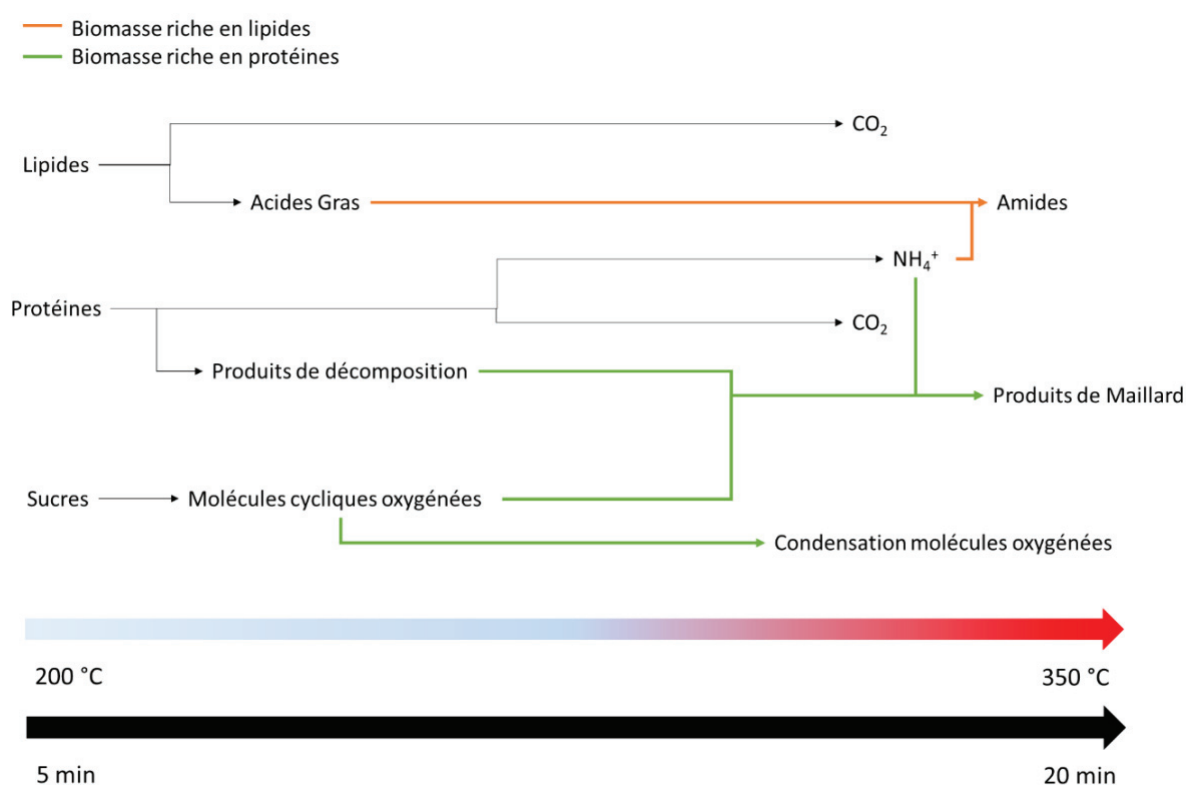


Figure III-26 : Schéma de synthèse de la réactivité des composants des micro-algues.

Cette étude nous a permis d'étudier de manière globale le comportement d'une micro-algue riche en protéines et riche en lipides en fonction de la température et du temps de séjour. Mais le développement de la liquéfaction hydrothermale à échelle industrielle nécessite l'utilisation d'outils de modélisation. La modélisation des données a notamment pour but de prédire le rendement ou la composition des bio-huiles à partir d'une composition initiale en biomasse et de conditions de liquéfaction hydrothermale données.

6. Modélisation par régression linéaire

La régression linéaire est la méthode la plus couramment utilisée pour modéliser les données de par sa simplicité d'utilisation. Elle permet également, grâce aux coefficients de l'équation, de mettre en évidence les paramètres les plus influents sur la réponse étudiée. Le Chapitre I5.1 décrit les principales publications ayant utilisé cette méthode.

Seuls les essais réalisés en batch ont été considérés et afin d'homogénéiser les données avec celles de la littérature, le rendement des essais a été exprimé en fonction de la matière sèche et non de la matière organique comme dans la partie précédente. De plus, le pourcentage de carbohydrates a été calculé de la manière suivante : $100 - (\% \text{protéines} + \% \text{lipides} + \% \text{cendres})$, ce qui correspond à la majorité des études réalisées et qui permet d'avoir un bilan de 100 % par rapport à la composition de la biomasse. On ne considère donc pas l'analyse des sucres totaux (voir Chapitre II). C'est une forte approximation de la composition mais cela permet de comparer les résultats avec ceux de la littérature. La Figure III-27 illustre ces différences de composition.

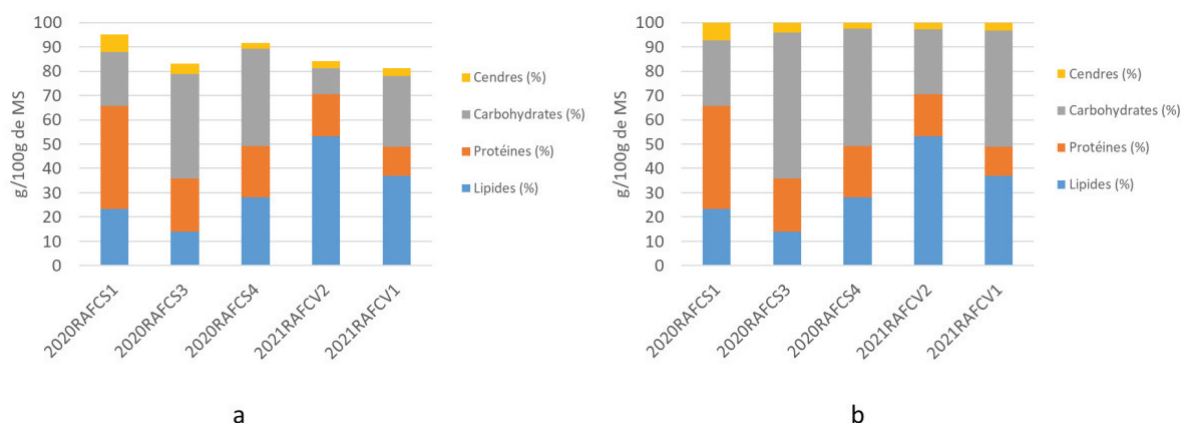


Figure III-27 : Composition biochimique des lots en considérant l'analyse des sucres totaux (a) et en considérant le taux de carbohydrates comme étant égal à $100 - (\% \text{protéines} + \% \text{lipides} + \% \text{cendres})$ (b)

6.1. Application des modèles issus de la littérature

En appliquant les conditions expérimentales des essais réalisés avec *C. Sorokiniana* et *C. vulgaris* en batch à la modélisation proposée par Aierzhati et al. (2019) (Figure III-28, a) ciblée sur la prédiction du rendement en bio-huile issue d'HTL de déchets alimentaires (à partir de la composition en lipides, protéines et carbohydrates, de la température et du temps de

séjour) [8], on se rend compte que le modèle ne s'applique pas à ces données. De même pour la modélisation de Jie Yang et al. (2019) (Figure III-28, b), les composés modèles choisis (huile de soja, cellulose, xylane, lignine, protéines de soja) pour modéliser le rendement en bio-huile ne représentent pas la biomasse algale. Ces deux modèles ne permettent pas de prédire le rendement en bio-huile issu d'HTL de micro-algues.

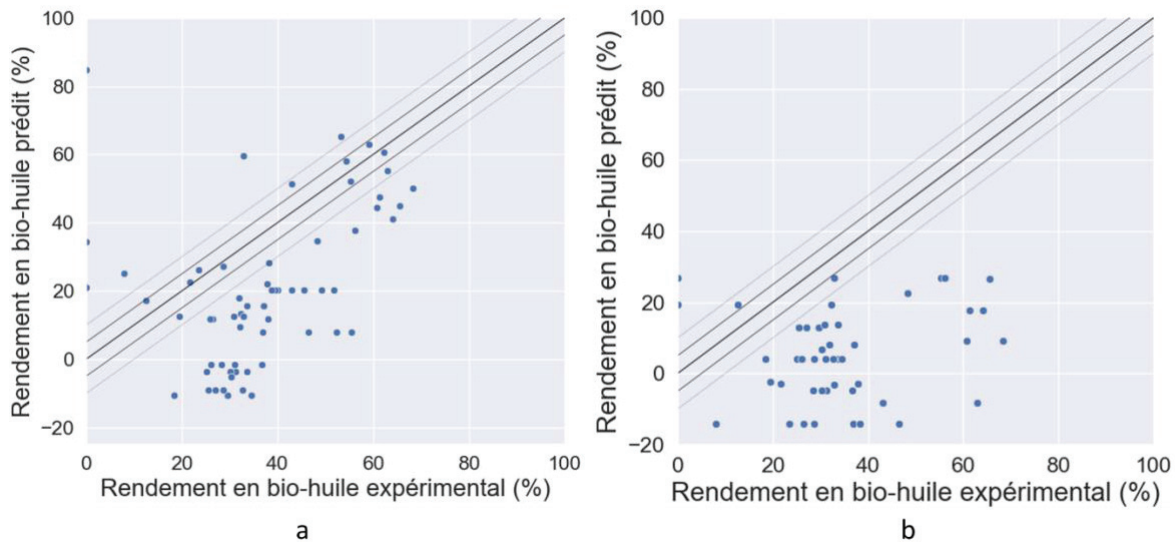


Figure III-28 : Valeurs expérimentales appliquées au modèle de Aierzhati et al. [8] (a) et de Jie Yang et al. [21] (b)

Les modèles précédents [8,21] n'ont pas été établis pour des micro-algues, le modèle de Li et al. (2017) [22] réalisé sur 24 batchs de micro-algues incluant les espèces *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlorogloeopsis* et *Spirulina* a donc été testé afin de voir l'influence de la ressource sur l'application de nos données au modèle. Celui-ci a été appliqué aux essais réalisés à 300 °C et 30 min nommés par RAFCINCS10 avec *C. sorokiniana* et RAFCINCV10 avec *C. vulgaris* (Tableau II-11) et la Figure III-29 illustre ces résultats. Le rendement en bio-huile a été bien prédit pour l'essai avec *C. vulgaris* mais pas pour celui avec *C. sorokiniana* (écart > 10 %). Tout comme pour la prédiction du taux d'azote qui est plus précise dans le cas de *C. vulgaris*. Ce modèle appliqué à la prédiction du rendement en bio-huile semble donc adapté à *C. vulgaris* mais de nouveaux essais doivent confirmer cette hypothèse. De plus, les essais choisis pour élaborer le modèle ont été réalisés avec un taux de matière sèche dans le réacteur de 80 %, bien plus élevé que dans notre cas (~10 %) et des micro-batch de 6 ml contre un batch de 600 ml dans notre cas, ce qui implique une différence de réactivité par la proximité des molécules entre elles et par les réactions secondaires pendant la rampe de température inexistante dans le cas d'un micro-batch. Le modèle n'a pas été réalisé dans les mêmes conditions et ne permet pas de prédire le rendement en bio-huile obtenu sous différentes conditions d'HTL (température, temps de séjour, taux de matière sèche), il est donc intéressant d'en proposer un sur nos données expérimentales.

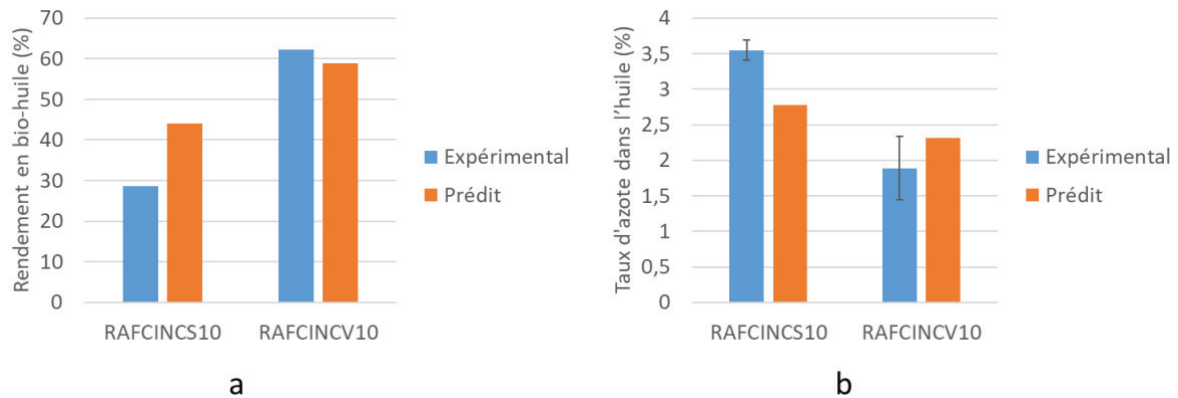


Figure III-29 : Application du modèle de Li et al. (2017) [22] aux essais à 300 °C et 30 min réalisés au laboratoire sur *C. sorokiniana* (RAFCINCS10) et *C. vulgaris* (RAFCINCV10) pour le rendement en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b)

6.2. Définition du modèle

Suite aux 64 essais en batch réalisés sur *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*, une régression linéaire a donc été réalisée. Le Tableau III-3 regroupe les paramètres pris en compte pour la modélisation : la composition macromoléculaire des micro-algues et les conditions de liquéfaction hydrothermale. Ce sont les paramètres qui ont le plus d'influence sur le rendement en bio-huile. Les cendres ont également été prise en compte car elles peuvent influencer la réactivité en conditions d'HTL [23]. Pour chaque modélisation, le coefficient de corrélation (R^2) et la moyenne quadratique (RMSE) ont été calculés afin de conclure sur la précision du modèle. Le R^2 permet d'évaluer l'efficacité des variables à prédire la sortie (ici le rendement) et la RMSE représente en moyenne, l'écart observé entre l'échantillon et la valeur prédite. Si le coefficient de corrélation est proche de 1, on peut conclure qu'il existe une corrélation entre les paramètres d'entrée et les grandeurs calculées et plus la RMSE est petite, plus la prédiction est précise.

Tableau III-3 : Paramètres pris en compte pour la modélisation linéaire des données

Paramètres d'entrée		Grandeurs calculées	
Composition des micro-algues	Conditions de liquéfaction hydrothermale	Rendement massique en bio-huile	Qualité de la bio-huile
Lipides (%) Carbohydrates (%) Protéines (%) Cendres (%)	Température (°C) Temps de séjour (min) Ratio biomasse/eau Vitesse de chauffe (°C/min)	$\frac{m_{bio-huile}}{m_{biomasse}}$	Azote dans la bio-huile (%)

6.3. Résultats

La régression linéaire permet d'obtenir les équations reliant le rendement en bio-huile et le taux d'azote à la composition de la biomasse et aux paramètres de liquéfaction hydrothermale, les résultats sont donnés ci-dessous :

$$Y_{\text{bio-huile}} = 146,29 - 1,81 * Cb - 2,70 * P - 0,92 * L + 5,45 * C + 0,09 * \%MS - 0,42 * VC + 0,19 * ts + 0,13 * T \quad (3. 1)$$

$$N_{\text{bio-huile}} = -8,76 + 0,06 * Cb + 0,22 * P + 0,05 * L - 0,34 * C + 0,015 * \%MS - 0,13 * VC + 0,026 * ts + 0,017 * T \quad (3. 2)$$

$Y_{\text{bio-huile}}$: Rendement en bio-huile par rapport au taux de biomasse sèche (%)

$N_{\text{bio-huile}}$: Taux d'azote dans la bio-huile par rapport au taux de biomasse sèche (%)

Cb : Taux de carbohydrates (%)

P : Taux de protéines (%)

L : Taux de lipides (%)

C : Taux de cendres (%)

%MS : Matière sèche (%)

VC : Vitesse de chauffe (°C/min)

ts : Temps de séjour (min)

T : Température (°C)

La régression linéaire ne permet pas de modéliser précisément les données (Figure III-30), les coefficients de corrélation obtenus (0,77 pour le rendement en bio-huile et 0,68 pour le taux d'azote) et les RMSE indiquent qu'il y a une faible corrélation linéaire entre le rendement en bio-huile ou le taux d'azote et la composition de la biomasse ainsi que les paramètres de l'HTL.

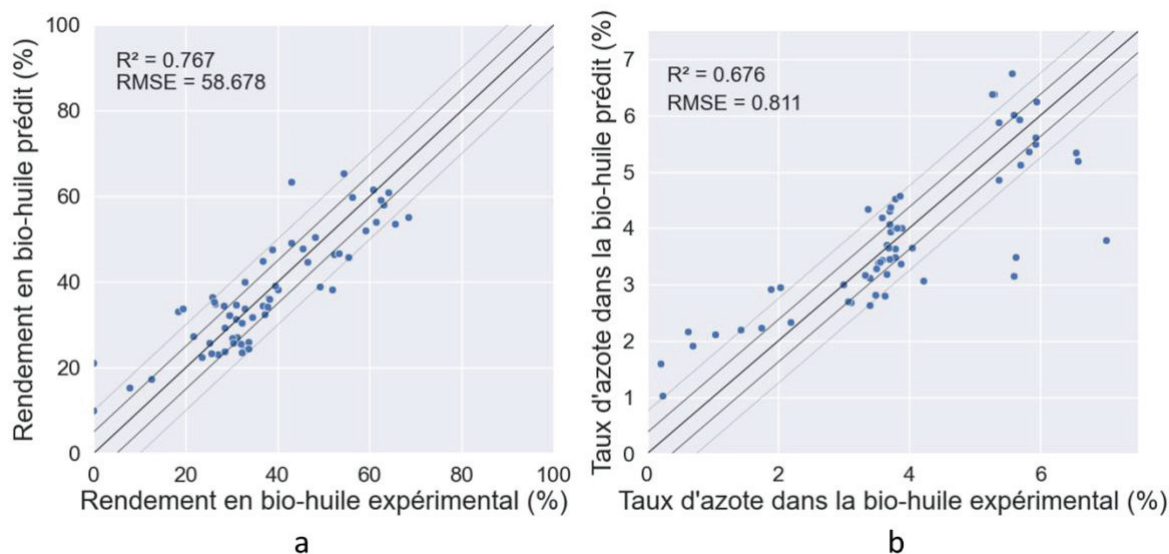


Figure III-30 : Régression linéaire pour prédire le rendement en bio-huile (a) et le taux d'azote dans la bio-huile (b)

En appliquant la régression linéaire prédisant le rendement en bio-huile à d'autres essais réalisés au laboratoire sur des biomasses différentes (déchets de l'industrie agro-alimentaire : drêches de cassis (BCP), de brasserie (BSG) [24] et déchets alimentaires (FW) [25]), on remarque que seul les drêches de brasserie suivent la tendance. La régression linéaire ne prend pas en compte la lignine, les drêches de brasseries, pauvres en lignine (voir Tableau III-4), s'adaptent donc mieux à la modélisation. On remarque dans le cas de déchets alimentaires (Figure III-31, b), que bien que la composition biochimique soit similaire à celle des drêches de brasserie (voir Tableau III-4), la structure et l'environnement cellulaire différent (biomasse hétérogène et non végétale) influe sur la réactivité en condition d'HTL, la régression linéaire ne s'applique donc pas à cette ressource. Ces observations nous permettent de confirmer que la régression linéaire est spécifique à une ressource (ici les micro-algues) ou à une biomasse similaire en terme de composition biochimique et de structure cellulaire.

Tableau III-4 : Composition des drêches de cassis, de brasserie et des déchets alimentaires

Ressource	Carbohydrates (%)	Protéines (%)	Lipides (%)	Lignine (%)
BCP	38,2	19,2	21,6	17,2
BSG	67,2	20,2	6,3	6,3
FW*	63,5	18,1	11,2	2,4

*Composition moyenne

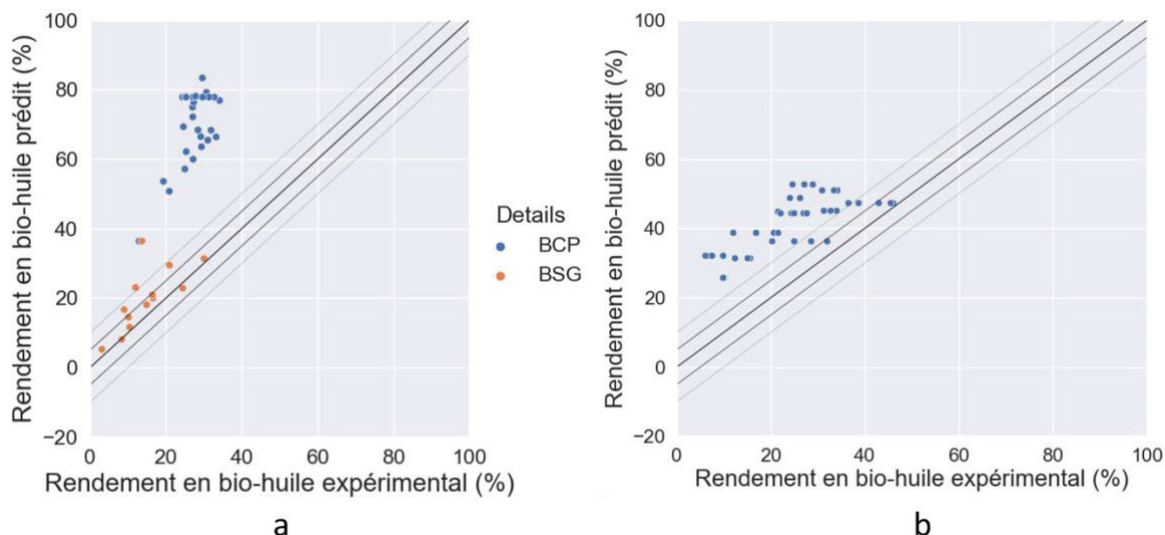


Figure III-31 : Test de la régression linéaire sur les données de : **a** : déchets de l'industrie agro-alimentaire (drêches de cassis : BCP et de brasserie : BSG), **b** : déchets alimentaires (FW)

Les résultats des essais en continu réalisés au laboratoire (voir annexe 3-A) sur les micro-algues ont également été testés sur ce modèle. On peut voir que l'essai où la différence est la moins visible est celui réalisé avec une biomasse ayant une forte proportion de protéines et de carbohydrates (2020RAFCS2) (voir Chapitre II.1.2.1). On peut donc supposer que les réactions menant à la production de bio-huile à partir de protéines et de carbohydrates sont plus faciles à prévoir par le modèle linéaire que la transformation des lipides. Cela se confirme en regardant l'écart entre la valeur prédite et expérimentale pour les biomasses riches en lipides (2021RAFVC1, 2021RAFVC4 et 2021RAFVC5), il est supérieur à 10 %. Concernant la température, peu d'essais batch ont été réalisés à 300 °C, ce qui peut expliquer l'écart de prédiction d'environ 3 % avec les valeurs expérimentales. De plus, la géométrie du réacteur en continu et la rampe de chauffe, différente du batch, peuvent influencer la prédiction du rendement en bio-huile.

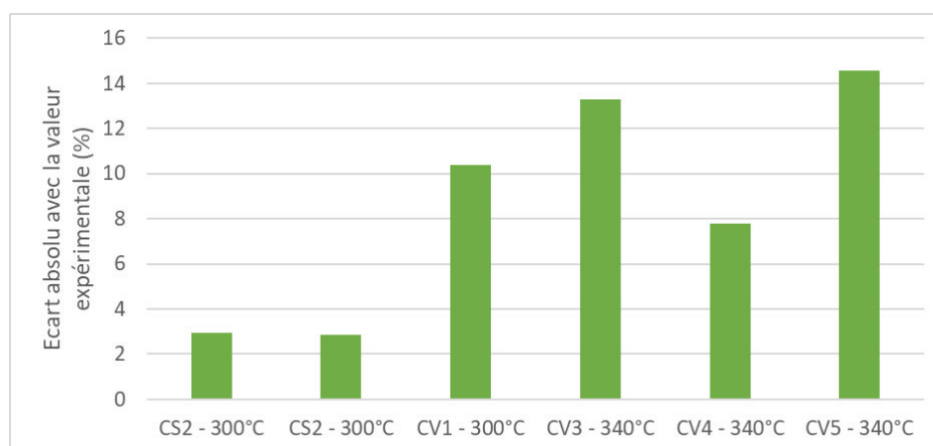


Figure III-32 : Écart entre la valeur du rendement en bio-huile (%) prédite par la régression linéaire et la valeur expérimentale pour les essais en continu

Si on applique maintenant les données issues de la littérature sur notre modèle, on remarque que les essais réalisés sur des déchets alimentaires sont regroupés par auteur (Figure III-33, a) et qu'une grande partie des données est en dehors du seuil de 10 %. De plus, quel que soit l'auteur, les données sur les micro-algues ne s'appliquent pas à notre modèle (Figure III-33, b). Ce qui montre bien l'influence du réacteur, du protocole utilisé et du manipulateur sur la modélisation des données.

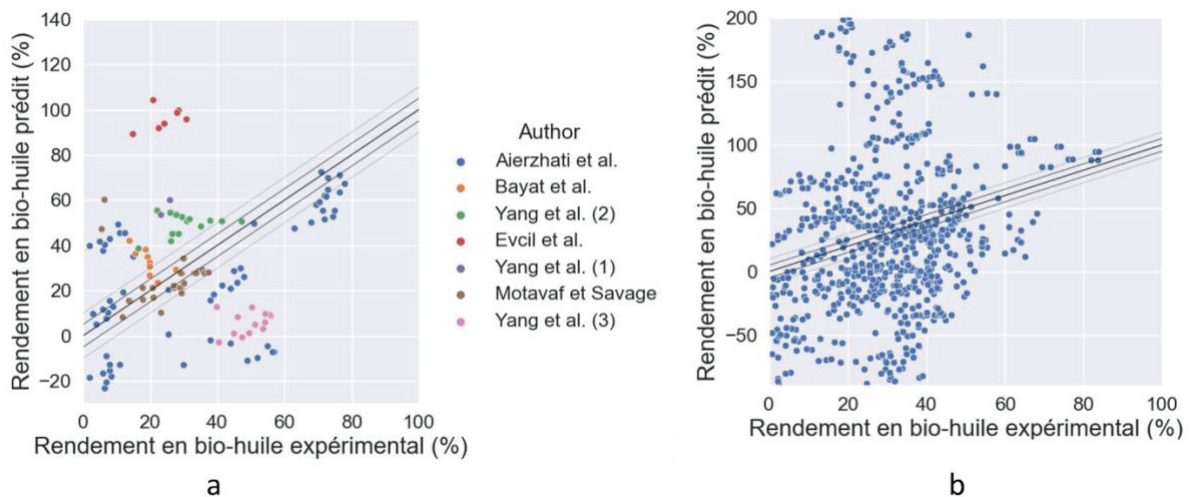


Figure III-33 : Application des données issues de la littérature sur le modèle de régression linéaire **a** : sur les déchets alimentaires [8,26–31], **b** : sur les micro-algues

Dans l'idée de mieux prendre en compte la réactivité, notamment pour les biomasses riches en protéines, la composition en acides aminés a été ajoutée au modèle. Le Tableau III-5 est alors considéré avec les six familles d'acides aminés. Finalement, on peut voir en Figure III-34, que le coefficient de corrélation est similaire à la première modélisation pour la prédiction du taux d'azote et très faiblement amélioré dans le cas du rendement en bio-huile avec un R^2 de 0,767 et un RMSE de 58,577 contre 0,767 et 58,678 respectivement avec et sans les acides aminés. La prise en compte des acides aminés ajoute donc peu de précision au modèle. Les profils n'étant pas disponibles pour les autres ressources, il n'est pas possible d'appliquer la modélisation à un autre jeu de données.

Tableau III-5 : Paramètres pris en compte pour la modélisation linéaire des données

Paramètres d'entrée			Grandeurs calculées	
Composition des micro-algues	Conditions de liquéfaction hydrothermale	Composition en acides aminés	Rendement massique en bio-huile	Qualité de la bio-huile
Lipides (%) Carbohydrates (%) Protéines (%) Cendres (%)	Température (°C) Temps de séjour (min) Proportion biomasse/eau (%) Vitesse de chauffe (°C/min)	AA hydroxylés (%) AA aliphatiques (%) AA acides (%) AA basiques (%) AA aromatiques (%) AA soufrés (%)	$\frac{m_{bio-huile}}{m_{biomasse}}$	Azote dans la bio-huile (%)

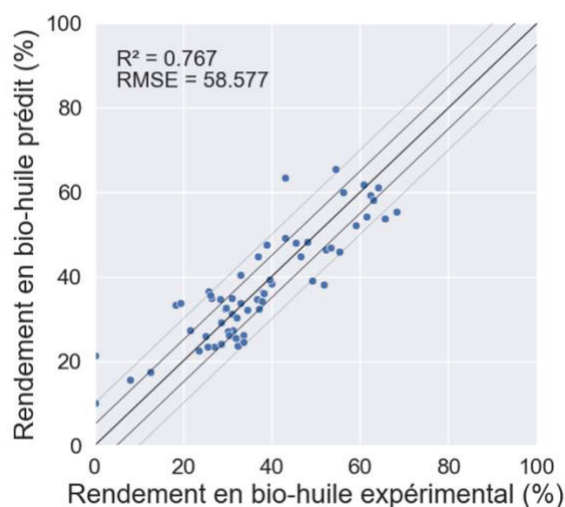


Figure III-34 : Régression linéaire pour prédire le rendement en bio-huile (en ajoutant les acides aminés comme paramètre d'entrée)

6.4. Conclusion

Ce type de modélisation ne nécessite pas un grand jeu de données et a l'avantage d'être rapide et simple d'utilisation. Il n'y a aujourd'hui aucun modèle additif proposé pour la prédiction du rendement et de la qualité des bio-huiles issues d'HTL de micro-algues en considérant la composition de la biomasse et les paramètres de l'HTL. De plus, très peu d'études utilisant des modélisations linéaires considèrent le taux d'azote dans la bio-huile. Ces essais permettent donc d'alimenter la base de données dans ce domaine. Cependant, la prédiction reste spécifique à une biomasse, notamment à cause des méthodes de caractérisations qui diffèrent d'une biomasse à l'autre et des différences en termes de structure et de composition. Il est donc nécessaire d'adapter le modèle à la ressource considérée. Le protocole d'extraction (méthode de séchage, solvant spécifique à une biomasse) et l'installation utilisée ont également un effet sur la précision du modèle. Finalement, même en

considérant le profil d'acides aminés, la complexité de la biomasse et de la réactivité en conditions d'HTL n'est pas prise en compte et ne permet pas une prédiction précise du rendement et du taux d'azote des bio-huiles. On va donc s'intéresser dans la partie suivante aux modélisations par *machine learning*.

7. Modélisation par *machine Learning*

Le *machine learning* est une méthode de modélisation issue du domaine de l'intelligence artificielle. Tout comme les méthodes de régression linéaire testées dans la partie précédente, le but est de prédire une ou plusieurs grandeurs en sortie (y) en fonction d'un vecteur de paramètres d'entrée (x). Cependant, comme son nom l'indique, le *machine learning* fonctionne par apprentissage, ce qui nécessite des jeux de données conséquents [32]. Cette partie donne un aperçu des résultats qu'il est possible d'obtenir en utilisant ce type de modélisation et les limites associées.

Tout comme pour la régression linéaire, des approximations ont été faites quant à la quantité de carbohydrates mais cette fois-ci les essais continus ont été pris en compte, les compositions biochimiques des lots utilisés ont été regroupées en Figure III-35.

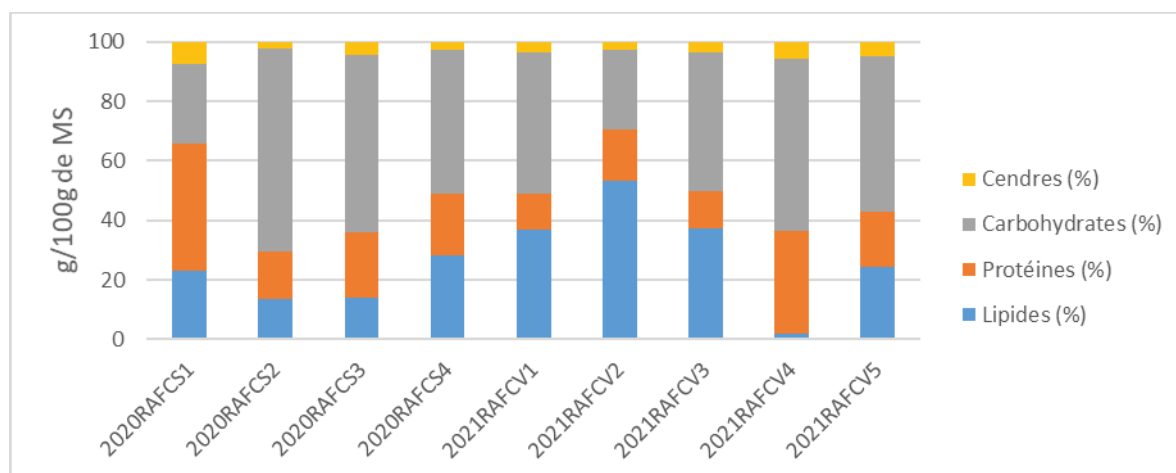


Figure III-35 : Composition biochimique des lots en considérant les carbohydrates comme étant égal à 100 – (%protéines + %lipides + %cendres)

7.1. Définition du modèle

7.1.1. Jeux de données

Trois jeux de données ont été considérés pour cette étude et sont détaillés dans le Tableau III-6. La modélisation est axée sur les données issues d'HTL de micro-algues, la modélisation réalisée avec le Dataset#1 servira donc de référence. Des données issues de la littérature ont dues être incluses au modèle pour avoir une quantité de données suffisante à l'utilisation de ce type de modélisation. On estime qu'un jeu de données supérieur à 200 est suffisant. On comparera ensuite les résultats obtenus sur les algues avec une modélisation prenant en compte différentes ressources seulement avec les essais réalisés au laboratoire (Dataset#2) et une considérant un plus grand jeu de données (Dataset#3). Les références des données issues de la littérature sont précisées en annexe 3-B.

Tableau III-6 : Jeux de données

Dénomination	Ressource	Source	Nombre d'essais
Dataset#1	Micro-algues	Laboratoire Littérature	857 essais
Dataset#2	Déchets de l'industrie agro-alimentaire et déchets alimentaires, liqueur noire, bois, micro-algues, macro-algues, molécules modèles et mélanges, boues	Laboratoire	292 essais
Dataset#3	Déchets de l'industrie agro-alimentaire et déchets alimentaires, liqueur noire, bois, micro-algues, macro-algues, herbe, molécules modèles et mélanges, boues	Laboratoire Littérature	2070 essais

7.1.2. Paramètres d'entrée et grandeur calculée

Le Tableau III-7 regroupe les paramètres d'entrée et de sortie pris en compte pour la modélisation, soit la composition macromoléculaire des micro-algues (lipides, protéines, carbohydrates, lignine, cendres) et les conditions de liquéfaction hydrothermale (température, temps de séjour, proportion biomasse/eau, vitesse de chauffe) comme paramètres d'entrée et le rendement en bio-huile en sortie. Le taux d'azote dans la bio-huile n'a pas été considéré en vue de la faible quantité de données disponibles.

Tableau III-7 : Paramètres pris en compte pour la modélisation des données

Paramètres d'entrée		Grandeur calculée
Composition de la biomasse	Conditions de liquéfaction hydrothermale	Rendement en bio-huile
Lipides (%) Carbohydrates (%) Protéines (%) Lignine (%) Cendres (%)	Température (°C) Temps de séjour (min) Proportion biomasse/eau (%) Vitesse de chauffe (°C/min)	$\frac{m_{bio-huile}}{m_{biomasse}}$

Le modèle prenant en compte le Dataset#1 est spécifique aux micro-algues et couvre de larges gammes de température, temps de séjour, ratio biomasse/eau, lipides, carbohydrates, et protéines. La Figure III-36 montre la répartition des valeurs de ces différents paramètres pour le Dataset#1. Habituellement, seul le temps de séjour est inclus dans les paramètres d'entrée, la vitesse de chauffe n'étant pas négligeable dans le cas des essais réalisés au laboratoire (~15 °C/min), ce paramètre a été rajouté au modèle. Le Dataset#2 couvre une gamme de composition plus large du fait de la diversité des ressources utilisées mais les paramètres de liquéfaction hydrothermale diffèrent peu entre les essais. Cependant, le Dataset#3 incluant des données issues de la littérature couvre à la fois une large gamme de composition mais aussi une diversité au niveau des paramètres d'HTL utilisés.

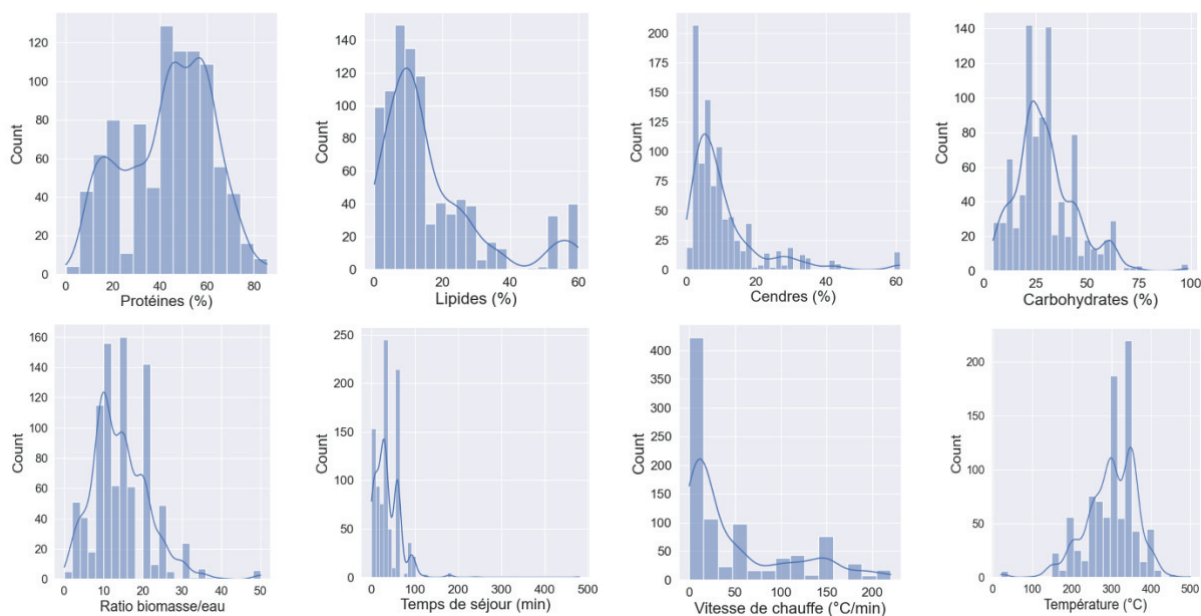


Figure III-36 : Gamme des paramètres d'entrée (Dataset#1)

7.2. Résultats

Quatre modélisations basées sur la méthodologie de l'arbre de décision ont été comparées : l'arbre de régression (*Regression Tree*, RT), la forêt d'arbre de décision (*Random Forest*, RF), l'amplification de gradient (*Gradient Boosting*, GB) et une variante du GB (*eXtreme Gradient Boosting*, XGB). Les méthodes de calcul sont décrites dans le Chapitre II. Chaque modélisation a été évaluée par le coefficient de corrélation (R^2) et la moyenne quadratique (RMSE). Chaque jeu de données a été séparé en deux, une partie dédiée à l'apprentissage du modèle et l'autre au test (soit 20 % des données). La valeur des coefficients du jeu de donnée test va permettre d'évaluer la précision du modèle.

Les résultats des différentes modélisations sont reportés dans le Tableau III-8. Si on compare tout d'abord les coefficients (R^2 *test* et RMSE *test*) du RT et du RF, basés sur des méthodes similaires, on observe une meilleure prédiction pour le RF. Ce dernier est en effet plus précis grâce aux nombreux arbres ayant servi à l'optimisation du modèle. Le Dataset#1, qui ne considère que les micro-algues, atteint de meilleurs coefficients que les autres, ce type de modélisation semble donc plus adapté lorsqu'une seule ressource est considérée. De plus, le R^2 associé au jeu de donnée *train* (0,91) est supérieur aux modélisations par régression linéaire considérées précédemment.

En comparant le RF avec le GB, méthode pour laquelle les arbres sont construits de manière séquentielle (minimisation de l'erreur), on remarque que le RF est plus adapté, ce qui a été également observé dans la littérature [33]. Le coefficient obtenu avec le RF pour le Dataset#1 est plus faible que celui obtenu par Li et al. (2021) [33], 0,91 contre 0,95 mais ce dernier considère d'autres biomasses, l'analyse élémentaire, les paramètres du solvant d'HTL et d'extraction dans son jeu de données, ce qui peut améliorer la prédiction. Cependant, Zhang et al. (2021) [34] obtient de meilleurs résultats avec le GB qu'avec le RF. Cela peut être dû au fait que les paramètres internes du modèle (profondeur, nombre d'arbres) n'ont pas été optimisés dans notre cas [35].

Si on compare maintenant le GB et le XGB, on remarque que ce dernier permet d'obtenir des coefficients de corrélation plus élevés, jusqu'à 0,95 pour les valeurs entraînées et 0,7 pour les valeurs test avec le Dataset#1. D'autres études ont également montré l'efficacité de ce modèle [35,36].

Tableau III-8 : Résultats des modélisations RT, RF, GB et XGB sur les 3 jeux de données

Dataset	Modèle	R ² train	RMSE train	R ² test	RMSE test
#1	RT	0,951	10,378	0,599	98,716
	RF	0,912	16,335	0,666	66,386
	GB	0,792	33,658	0,72	53,907
	XGB	0,948	10,761	0,695	73,761
#2	RT	0,774	44,877	-0,257	206,847
	RF	0,685	53	-0,193	172,361
	GB	0,7	51,978	0,027	144,697
	XGB	0,774	44,878	-0,103	182,466
#3	RT	0,876	36,031	0,6	132,083
	RF	0,847	41,391	0,638	98,916
	GB	0,635	78,532	0,562	92,253
	XGB	0,864	38,339	0,653	97,066

Finalement, parmi les méthodes utilisant l'arbre de décision, le XGB et le RF sont les outils les plus intéressants pour la prédiction du rendement en bio-huile pour les trois jeux de données, le graphique représentant les rendements prédits en fonction des rendements expérimentaux pour les trois jeux de données est présenté en Figure III-37. On remarque que parmi toutes les modélisations, le Dataset#1 permet d'atteindre les coefficients les plus élevés, ce qui confirme le fait qu'une modélisation de type *machine learning* est spécifique à la ressource utilisée, tout comme les régressions linéaires considérées précédemment. De plus, théoriquement, il est plus intéressant de considérer un jeu de données conséquent tel que le Dataset#3 pour ce type de modèle, mais ici, les différences dues aux conditions dans lesquelles ont été réalisées l'HTL ont un impact direct sur la précision du modèle. La principale différence est liée à la caractérisation de la biomasse de départ, les protéines, lipides et carbohydrates ne sont pas analysés de la même manière chaque fois. De plus, les conditions dans lesquelles sont réalisées l'HTL diffèrent d'une étude à l'autre notamment par la méthode d'extraction utilisée, le séchage ou non du biocrude, la présence d'une rampe de température et la taille du réacteur. Il est donc important d'homogénéiser les données dans le cas où les essais n'ont pas été réalisés sur les mêmes installations ou alors de détailler les paramètres d'entrée (solvant, %humidité...).

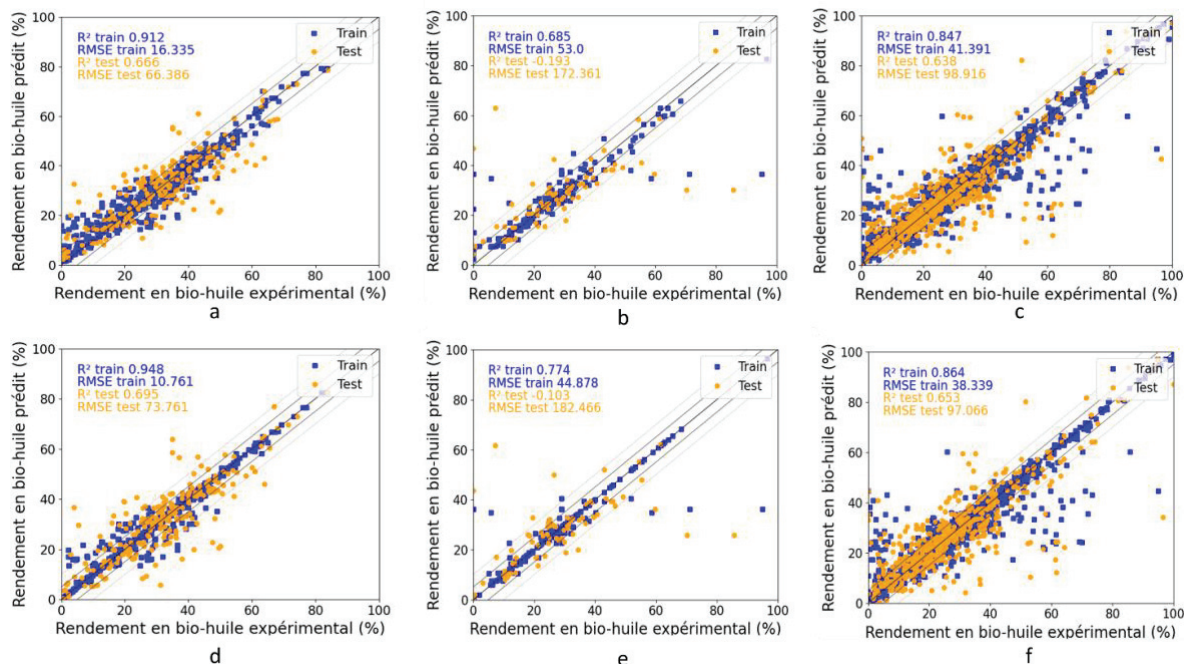


Figure III-37 : Modélisation par RF (a, b, c) et par XGB (d, e, f) pour les trois jeux de données (a, d : Dataset#1, b, e : Dataset#2, c, f : Dataset#3)

Le modèle réalisé à l'aide de la méthode XGB et entraîné sur le Dataset#1 a été appliqué aux données des essais réalisés sur le réacteur batch afin de pouvoir comparer son efficacité par rapport à la régression linéaire, la Figure III-38 illustre ces résultats. L'efficacité de ce modèle est confirmée ici par le coefficient de corrélation (0,94) plus élevé que celui obtenu par la régression linéaire (0,77).

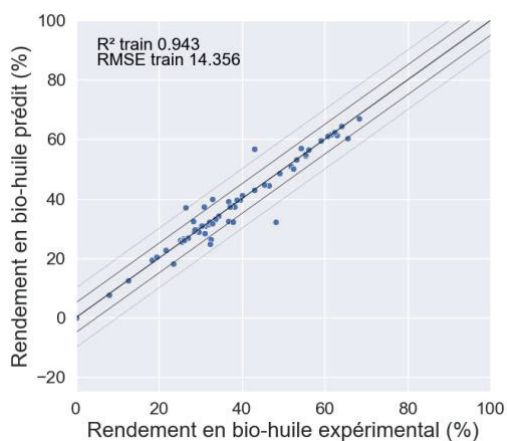


Figure III-38 : Application des données issues des essais batch sur le modèle XGB entraîné sur le Dataset#1

7.3. Conclusion

Les outils de *machine learning* sont plus précis que la régression linéaire par le fait qu'ils fonctionnent par apprentissage, qu'ils considèrent un grand jeu de données et qu'ils ont plus de variables d'ajustement. On remarque aussi que pour les modélisations par *machine learning*, quelle que soit la méthode utilisée, plus on a de données, plus la prédiction sera précise. Il est donc intéressant de regrouper les données de la littérature, en notant bien l'importance d'uniformiser les données (calcul du rendement, caractérisation de la biomasse etc.) pour que la prédiction soit représentative. Les modélisations par arbre de décision peuvent également être optimisées en ajustant les paramètres internes du modèle, comme la profondeur de l'arbre ou le nombre d'arbres généré aléatoirement.

D'autres types de modèles existent et ont également été utilisés pour prédire des rendements en bio-huile issue de liquéfaction hydrothermale, comme le modèle additif généralisé (Generalized Additive Model, GAM), la régression par support vectoriel (support vector regression, SVR), la régression par processus Gaussien (Gaussian process regression, GPR), la régression ridge à noyau (kernel Ridge Regression, kRR) ou encore le réseau de neurones (Neural Networks, NN) [32,36].

Ces deux parties (6 et 7) nous ont aussi montré les limites de ces types de modélisation. La diversité de molécules au sein d'une même famille diffère selon la nature de la biomasse (familles d'acides aminés, unités de sucres dans l'hémicellulose, longueur et structure des chaînes lipidiques...), tout comme la structure cellulaire (rigidité de la paroi, présence d'organites utiles à la photosynthèse...), ce qui influe directement sur la réactivité en conditions d'HTL. Les interactions entre molécules seront plus ou moins facilitées et des molécules ne seront formées qu'avec certaines biomasses, le rendement en bio-huile sera alors affecté.

Plusieurs améliorations peuvent donc être apportées, tout d'abord, il est possible de rajouter des paramètres d'entrée. Tout comme pour les modélisations par régression linéaire, les modélisations réalisées par *machine learning* considèrent la biomasse comme des carbohydrates, des protéines et des lipides de manière globale. Il serait cependant possible de détailler la composition de ces macromolécules en précisant par exemple, le profil d'acides aminés (comme testé avec la régression linéaire) ou en intégrant le facteur de conversion nécessaire au calcul du taux de protéines. Certaines études incluent également l'analyse élémentaire dans les paramètres d'entrée [32–34,36]. De plus, il est possible de préciser les conditions opératoires de l'HTL en intégrant les propriétés du solvant, telle que la polarité ou en prenant en compte l'étape de séchage avec le taux d'humidité du biocrude avant extraction.

Cependant, avec ces modélisations, il est impossible de savoir pourquoi, d'un point de vue réactionnel, les paramètres influent positivement ou négativement sur le rendement en bio-huile.

8. Conclusion finale

Le comportement global des micro-algues face aux différentes conditions d'HTL a été observé, en séparant les micro-algues riches en protéines, riches en lipides et riches en carbohydrates. L'étude par plan d'expérience nous a permis d'avoir une idée sur les conditions optimales à appliquer selon la composition de la biomasse de départ et les analyses complémentaires par GPC-SEC et GC-MS ont permis de comprendre l'effet de la température et du temps de séjour sur la réactivité de l'algue riche en protéines en conditions d'HTL. De plus, les effets de la composition de la biomasse et des conditions d'HTL observés en réacteur batch ont été comparés à ceux observés sur des essais en continu. Finalement, des modélisations de type régression linéaire et *machine learning* ont été appliquées afin de pouvoir prédire le rendement en bio-huile et le taux d'azote en fonction de la composition de la biomasse et des conditions de l'HTL. Cela a permis de valoriser l'ensemble des essais réalisés sur les micro-algues et de se rendre compte des limites de ces modèles. Finalement, il est possible de modéliser les données de manière spécifique (par catégorie de biomasse) mais pas avec une approche générale (tout type de biomasse mélangé). La complexité du système réactionnel a ainsi été mise en évidence. Il est donc nécessaire de comprendre d'avantages la réactivité d'un point de vue moléculaire pour pouvoir construire un schéma cinétique et prédire de manière plus précise le rendement et la composition de la bio-huile. Le chapitre suivant est dédié à l'analyse des produits issus de l'HTL de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris* et a pour but de construire un schéma réactionnel adapté ces espèces.

Références

- [1] H. Toulhoat and P. Raybaud, Catalysis by transition metal sulphides. From molecular theory to industrial applications., Technip Edition, Paris, 2013, *Journal of Catalysis*. 307 (2013) 121. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2013.06.011>.
- [2] G.H.C. Prado, Y. Rao, A. de Klerk, Nitrogen Removal from Oil: A Review, *Energy Fuels*. 31 (2017) 14–36. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02779>.
- [3] E. Furimsky, F.E. Massoth, Hydrodenitrogenation of Petroleum, *Catalysis Reviews*. 47 (2005) 297–489. <https://doi.org/10.1081/CR-200057492>.
- [4] G. Teri, L. Luo, P.E. Savage, Hydrothermal Treatment of Protein, Polysaccharide, and Lipids Alone and in Mixtures, *Energy Fuels*. 28 (2014) 7501–7509. <https://doi.org/10.1021/ef501760d>.
- [5] F. Cheng, Z. Cui, L. Chen, J. Jarvis, N. Paz, T. Schaub, N. Nirmalakhandan, C.E. Brewer, Hydrothermal liquefaction of high- and low-lipid algae: Bio-crude oil chemistry, *Applied Energy*. 206 (2017) 278–292. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.105>.
- [6] M.A. Borowitzka, J. Beardall, J.A. Raven, *The Physiology of Microalgae*, Springer, 2016. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-24945-2> (accessed June 3, 2022).
- [7] W. Yang, X. Li, Z. Li, C. Tong, L. Feng, Understanding low-lipid algae hydrothermal liquefaction characteristics and pathways through hydrothermal liquefaction of algal major components: Crude polysaccharides, crude proteins and their binary mixtures, *Bioresource Technology*. 196 (2015) 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.020>.
- [8] A. Aierzhati, M.J. Stablein, N.E. Wu, C.-T. Kuo, B. Si, X. Kang, Y. Zhang, Experimental and model enhancement of food waste hydrothermal liquefaction with combined effects of biochemical composition and reaction conditions, *Bioresource Technology*. 284 (2019) 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.076>.
- [9] P. Biller, A.B. Ross, Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content, *Bioresource Technology*. 102 (2011) 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.028>.
- [10] S. He, M. Zhao, J. Wang, Z. Cheng, B. Yan, G. Chen, Hydrothermal liquefaction of low-lipid algae *Nannochloropsis* sp. and *Sargassum* sp.: Effect of feedstock composition and temperature, *Science of The Total Environment*. 712 (2020) 135677. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135677>.
- [11] Y. Fan, U. Hornung, N. Dahmen, A. Kruse, Hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass: study of model compounds for Maillard reactions, *Biomass Conversion and Biorefinery*. 8 (2018) 909–923. <https://doi.org/10.1007/s13399-018-0340-8>.
- [12] D.C. Hietala, C.M. Godwin, B.J. Cardinale, P.E. Savage, The individual and synergistic impacts of feedstock characteristics and reaction conditions on the aqueous co-product from hydrothermal liquefaction, *Algal Research*. 42 (2019) 101568. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101568>.
- [13] Y. Fan, U. Hornung, K. Raffelt, N. Dahmen, The influence of lipids on the fate of nitrogen during hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 147 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104798>.
- [14] P.J. Valdez, M.C. Nelson, H.Y. Wang, X.N. Lin, P.E. Savage, Hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp.: Systematic study of process variables and analysis of the product fractions, *Biomass and Bioenergy*. 46 (2012) 317–331. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.08.009>.
- [15] J. Arun, K.P. Gopinath, S.J. Shreekanth, R. Sahana, M.S. Raghavi, D. Gnanaprakash, Effects of Process Parameters on Hydrothermal Liquefaction of Microalgae Biomass Grown in Municipal Wastewater, *Pet. Chem.* 59 (2019) 194–200. <https://doi.org/10.1134/S0965544119020026>.

- [16] H.K. Reddy, T. Muppaneni, S. Ponnusamy, N. Sudasinghe, A. Pegallapati, T. Selvaratnam, M. Seger, B. Dungan, N. Nirmalakhandan, T. Schaub, F.O. Holguin, P. Lammers, W. Voorhies, S. Deng, Temperature effect on hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis gaditana* and *Chlorella* sp., *Applied Energy*. 165 (2016) 943–951. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.11.067>.
- [17] A.B. Ross, P. Biller, M.L. Kubacki, H. Li, A. Lea-Langton, J.M. Jones, Hydrothermal processing of microalgae using alkali and organic acids, *Fuel*. 9 (2010) 2234–2243. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.01.025>.
- [18] L. Leng, J. Li, Z. Wen, W. Zhou, Use of microalgae to recycle nutrients in aqueous phase derived from hydrothermal liquefaction process, *Bioresource Technology*. 256 (2018) 529–542. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.121>.
- [19] C. Hognon, F. Delrue, J. Texier, M. Grateau, S. Thiery, H. Miller, A. Roubaud, Comparison of pyrolysis and hydrothermal liquefaction of *Chlamydomonas reinhardtii*. Growth studies on the recovered hydrothermal aqueous phase, *Biomass and Bioenergy*. 73 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.11.025>.
- [20] C. Torri, L. Alba, C. Samorì, D. Fabbri, W. Brilman, Hydrothermal Treatment (HTT) of Microalgae: Detailed Molecular Characterization of HTT Oil in View of HTT Mechanism Elucidation, *Energy & Fuels*. 26 (2012) 658–671. <https://doi.org/10.1021/ef201417e>.
- [21] J. Yang, Q. (Sophia) He, K. Corscadden, H. Niu, J. Lin, T. Astatkie, Advanced models for the prediction of product yield in hydrothermal liquefaction via a mixture design of biomass model components coupled with process variables, *Applied Energy*. 233–234 (2019) 906–915. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.10.035>.
- [22] Y. Li, S. Leow, A.C. Fedders, B.K. Sharma, J.S. Guest, T.J. Strathmann, Quantitative multiphase model for hydrothermal liquefaction of algal biomass, *Green Chem*. 19 (2017) 1163–1174. <https://doi.org/10.1039/C6GC03294J>.
- [23] W.-T. Chen, W. Qian, Y. Zhang, Z. Mazur, C.-T. Kuo, K. Scheppe, L.C. Schideman, B.K. Sharma, Effect of ash on hydrothermal liquefaction of high-ash content algal biomass, *Algal Research*. 25 (2017) 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.05.010>.
- [24] M. Briand, Conception et évaluation d'un procédé de liquéfaction hydrothermale en vue de la valorisation énergétique de résidus agroalimentaires, These de doctorat, Lyon, 2021. <http://www.theses.fr/2021LYSE1027> (accessed July 27, 2022).
- [25] Haarlemmer, Roubaud, Bio-oil production from biogenic wastes, the hydrothermal conversion step - Data, (2022). <https://doi.org/10.5281/zenodo.6880586>.
- [26] H. Bayat, M. Dehghanizadeh, J.M. Jarvis, C.E. Brewer, U. Jena, Hydrothermal Liquefaction of Food Waste: Effect of Process Parameters on Product Yields and Chemistry, *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 5 (2021). <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2021.658592> (accessed July 27, 2022).
- [27] J. Yang, Q.S. He, H. Niu, T. Astatkie, K. Corscadden, R. Shi, Statistical Clarification of the Hydrothermal Co-Liquefaction Effect and Investigation on the Influence of Process Variables on the Co-Liquefaction Effect, *Ind. Eng. Chem. Res*. 59 (2020) 2839–2848. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b06655>.
- [28] L. Yang, L. Nazari, Z. Yuan, K. Corscadden, C. (Charles) Xu, Q. (Sophia) He, Hydrothermal liquefaction of spent coffee grounds in water medium for bio-oil production, *Biomass and Bioenergy*. 86 (2016) 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.02.005>.
- [29] C. Yang, S. Wang, M. Ren, Y. Li, W. Song, Hydrothermal Liquefaction of an Animal Carcass for Biocrude Oil, *Energy Fuels*. 33 (2019) 11302–11309. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b03100>.
- [30] T. Evcil, K. Tekin, S. Ucar, S. Karagoz, Hydrothermal liquefaction of olive oil residues, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 22 (2021) 100476. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100476>.

- [31] B. Motavaf, P.E. Savage, Effect of Process Variables on Food Waste Valorization via Hydrothermal Liquefaction, *ACS EST Eng.* 1 (2021) 363–374. <https://doi.org/10.1021/acsestengg.0c00115>.
- [32] A. Shafizadeh, H. Shahbeig, M.H. Nadian, H. Mobli, M. Dowlati, V.K. Gupta, W. Peng, S.S. Lam, M. Tabatabaei, M. Aghbashlo, Machine learning predicts and optimizes hydrothermal liquefaction of biomass, *Chemical Engineering Journal.* 445 (2022) 136579. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136579>.
- [33] J. Li, W. Zhang, T. Liu, L. Yang, H. Li, H. Peng, S. Jiang, X. Wang, L. Leng, Machine learning aided bio-oil production with high energy recovery and low nitrogen content from hydrothermal liquefaction of biomass with experiment verification, *Chemical Engineering Journal.* (2021) 130649. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130649>.
- [34] W. Zhang, J. Li, T. Liu, S. Leng, L. Yang, H. Peng, S. Jiang, W. Zhou, L. Leng, H. Li, Machine learning prediction and optimization of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae, *Bioresource Technology.* 342 (2021) 126011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126011>.
- [35] F. Cheng, E.R. Belden, W. Li, M. Shahabuddin, R.C. Paffenroth, M.T. Timko, Accuracy of predictions made by machine learned models for biocrude yields obtained from hydrothermal liquefaction of organic wastes, *Chemical Engineering Journal.* 442 (2022) 136013. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136013>.
- [36] T. Katongtung, T. Onsree, N. Tippayawong, Machine learning prediction of biocrude yields and higher heating values from hydrothermal liquefaction of wet biomass and wastes, *Bioresource Technology.* 344 (2022) 126278. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126278>.

Chapitre IV : Réactivité de *C. sorokiniana*
et *C. vulgaris* en conditions d'HTL :
analyse de la bio-huile et de la phase
aqueuse

Les observations faites dans le chapitre précédent établissent un lien direct entre la composition de la biomasse, les rendements et la composition des produits finaux. On va donc ici s'interroger sur les mécanismes réactionnels mis en jeu dans la production de bio-huile avec une attention particulière portée sur la formation des composés azotés issus de la dégradation des acides aminés. La réactivité des autres molécules a déjà été décrite dans le Chapitre I. Le but de ce chapitre est de proposer un schéma réactionnel adapté à *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*. Pour cela, un premier schéma réactionnel basé sur la littérature et sur la caractérisation biochimique de *C. sorokiniana* sera proposé. On évoquera les différences observées dans le cas de *C. vulgaris* et les principales modifications à apporter au schéma réactionnel pour cette algue plus riche en lipides. Les voies réactionnelles seront ensuite confirmées ou non en fonction des analyses de constituants des bio-huiles et de la phase aqueuse, cette étude sera particulièrement ciblée sur les analyses de produits issus d'HTL de *C. sorokiniana*.

1. Proposition d'un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* en conditions d'HTL

1.1. Etude de *C. sorokiniana*

1.1.1. Réactivité des acides aminés en conditions d'HTL

En conditions de liquéfaction hydrothermale, les protéines sont tout d'abord hydrolysées en acides aminés. Ces derniers peuvent ensuite se dimériser ou se dégrader par désamination ou décarboxylation puis se cycliser ou réagir avec des acides gras, des unités de sucres ou d'autres produits de dégradation présents dans le milieu. De plus, des réactions de condensation ont lieu entre ces différents produits pour former des molécules à plus haut poids moléculaire. Les acides aminés sont les précurseurs majoritaires des molécules azotées. D'autres types de molécules comme les pigments sont aussi des sources d'azote dans l'huile issue de l'HTL mais leur dégradation sera abordée dans un second temps.

Le profil d'A.A. moyen des trois lots de *C. sorokiniana* étudiés dans le chapitre précédent, est donné en Figure IV-1. On remarque que chez *C. sorokiniana*, les acides aminés

sont les plus abondants. On distingue ensuite les acides aminés aromatiques, basiques, soufrés puis aliphatiques et hydroxylés.

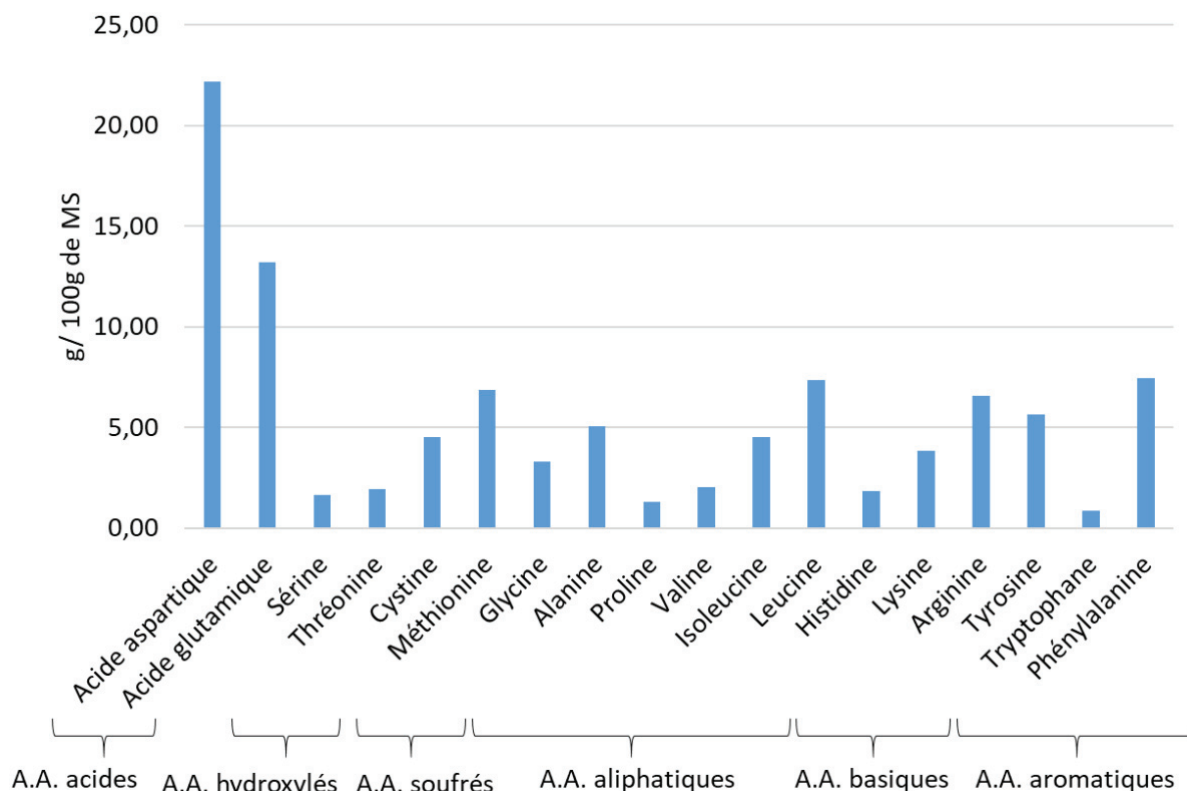


Figure IV-1 : Profil d'acides aminés de *C. sorokiniana* (moyenne des 3 lots : 2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4)

Comme expliqué dans le Chapitre I (et représenté en annexe 1), les acides aminés (A.A.) possèdent une fonction amine, une fonction acide et une chaîne latérale variable. Généralement, dans les conditions de liquéfaction hydrothermale, les acides aminés sont décomposés par décarboxylation pour former des amines ou par désamination pour former des acides avec une double liaison. Les amines peuvent ensuite réagir ensemble pour former des diamines. D'autres part, la double liaison présente sur les acides est disponible pour former des alcools en réagissant avec l'eau. Cette molécule peut ensuite être dégradée par rupture d'une liaison C-C pour former du CO₂ et des aldéhydes ou cétones. La double liaison peut également être hydrogénée et des acides carboxyliques sont alors formés.

La deuxième étape mène à l'élimination du groupement amine ou carboxylique non dégradé dans la première étape. On forme alors des alcènes, qui peuvent être soit hydrogénés pour former des alcanes, soit hydratés pour former des alcools. Les alcènes peuvent également se dimériser ou polymériser.

Les voies décrites s'appliquent à tous les acides aminés, cependant leur réactivité diffère selon la fonction chimique de la chaîne latérale. Un classement a donc été effectué afin d'étudier leur réactivité par famille. Ci-dessous, les six catégories considérées :

- Les acides aminés (A.A.) aliphatiques (Glycine, Alanine, Proline, Valine, Isoleucine, Leucine)
- Les A.A. acides (Acide glutamique, Acide Aspartique)
- Les A.A. basique (Histidine, Lysine, Arginine, Asparagine, Glutamine, Proline)
- Les A.A. hydroxylés (Sérine, Thréonine)
- Les A.A. soufrés (Cystine, Méthionine)
- Les A.A. aromatiques (Tryptophane, Phénylalanine, Tyrosine)

Le profil d'acides aminés des lots de *C. sorokiniana* (Figure IV-1) permet de déterminer l'importance relative de chaque famille dans la formation des produits. La dégradation des A.A. aliphatiques sera décrite en premier car certaines voies réactionnelles sont communes aux autres familles d'A.A..

Dégradation des acides aminés aliphatiques :

Les acides aminés aliphatiques n'ont pas de fonction chimique spécifique sur leur chaîne latérale. Cette dernière est non polaire et favorise la formation de dicétopipérazine (DKP) par polymérisation des unités α d'acides aminés [1] (exemple avec la leucine en Figure IV-2) mais ils peuvent aussi être dégradés par décarboxylation ou désamination pour former des amines ou acides comme expliqué précédemment.

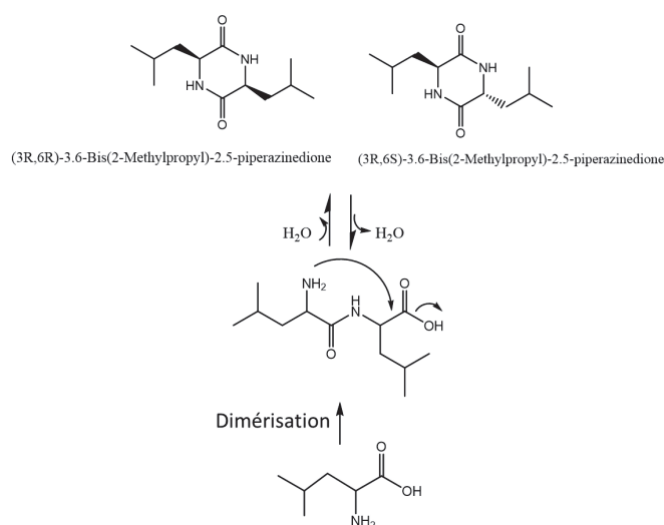


Figure IV-2 : Mécanisme de formation des DKP à partir de la dimérisation de la leucine

Comme la plupart des acides aminés, ils sont plus stables en conditions basiques, les réactions de dégradation sont favorisées à un pH faible [2,3]. De plus, Abdelmoez et al. (2010) [3] a montré qu'à 290 °C, la dégradation de la leucine est plus simple que celle de l'isoleucine et que la stabilité des acides aminés est considérablement réduite en présence d'autres acides aminés. Selon l'aminogramme de *C. sorokiniana* (Figure IV-1), la leucine est l'acide aminé aliphatique le plus abondant, son schéma de dégradation en condition hydrothermales est présenté en Figure IV-3. La décarboxylation entraînant la formation d'isoamylamine est la voie privilégiée lors de cette réaction [4]. Le schéma réactionnel de dégradation de l'alanine et de la glycine sont décrits par Cox et al. [5]. Les molécules formées sont de la même famille, seule la longueur ou configuration de la chaîne carbonée est différente.

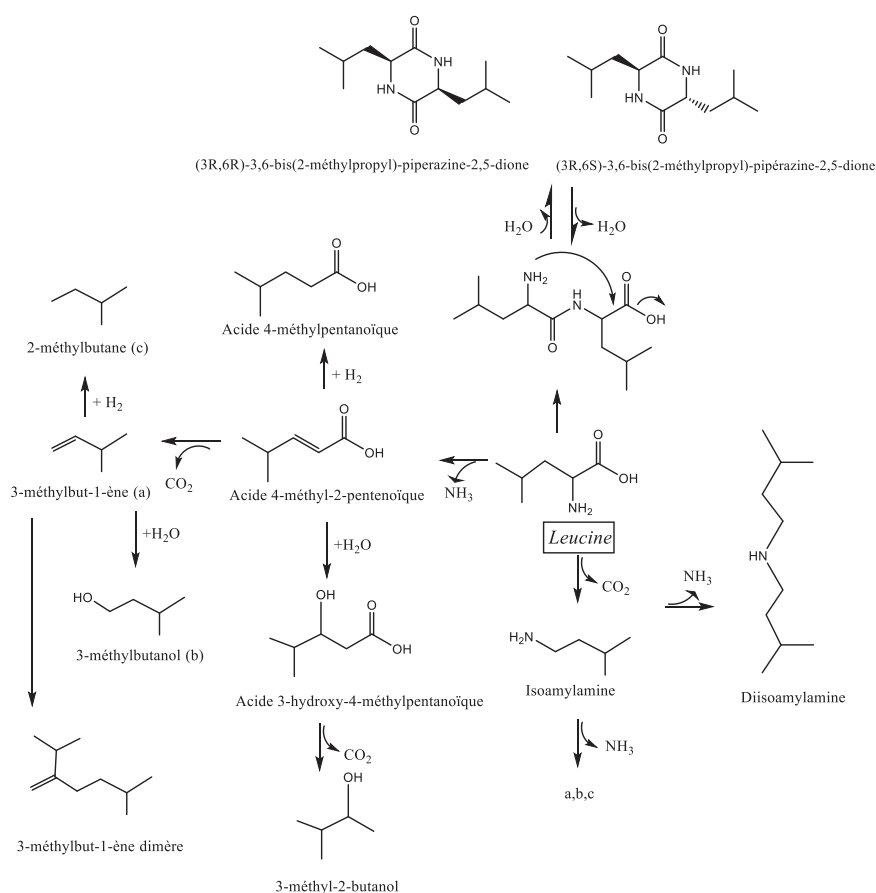


Figure IV-3 : Schéma réactionnel de dégradation de la leucine en conditions d'HTL (inspiré de [4,6])

Dégradation des acides aminés acides :

Dans le cas des acides aminés acides, d'autres voies réactionnelles existent. La fonction amine peut, grâce à son comportement basique, réagir avec des protons, et par conséquent, renforcer le caractère nucléophile de la fonction acide en fin de chaîne latérale. Ceci favorise

alors la cyclisation sur le carbone électrophile (numéroté 1 dans la Figure IV-4) relié à la fonction acide et amine, dans le cas où la stabilité chimique du cycle est supérieure à la forme linéaire. Les voies classiques de dégradation comme la désamination ou la décarboxylation sont également possibles. La réaction de décarboxylation peut avoir lieu sur les deux fonctions acides mais la présence de l'amine sur le carbone 2 (Figure IV-4) ne favorise pas cette décarboxylation. La réaction se fait donc préférentiellement sur la chaîne latérale (carbone 5 en Figure IV-4) et forme des acides aminés aliphatiques, tels que l'alanine. De la même manière que la leucine (Figure IV-2), la dégradation de l'alanine mène à la formation de dicétopipérazines, d'acides et d'amines.

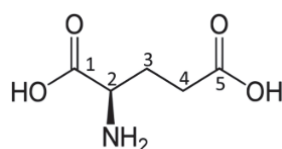


Figure IV-4 : Structure chimique de l'acide glutamique avec numérotation des carbones de 1 à 5

Selon l'étude de Sheehan et Savage (2017) [1] sur l'HTL de protéines à 200 °C et après 60 min, l'acide glutamique représente 45 % des acides aminés libres et cette proportion diminue à 11 % à 250 °C. De plus, Abdelmoez et al. ont montré que les acides glutamique et aspartique sont dégradés au-dessus de 230 °C, ce qui indique que la décomposition de cette famille d'acides aminés a lieu en grande partie entre 200 et 230 °C [3].

Aux vues de la proportion élevée en acide aspartique chez *C. sorokiniana*, sa dégradation sera d'avantage détaillée en Figure IV-5. Une des voies majoritaires de dégradation de l'acide aspartique est la réaction de désamination [2]. Celle-ci mène à la formation d'acide malique, propice à des réactions de cyclisation, comme représenté en Figure IV-5, qui en présence d'azote mène à la formation de succinimide ou de 2-pyrrolidone. Mais l'étude de Déniel et al. montre également que la déshydratation et la cyclisation sont des voies privilégiées dans le cas de l'acide glutamique [7]. Les deux acides ayant une structure similaire, on peut conclure que la formation de furanone par déshydratation sera favorisée dans le cas de l'acide aspartique. Cependant, compte tenu de la quantité non négligeable d'acide glutamique dans *C. sorokiniana*, on notera également la production de butyrolactone, spécifique à cet acide aminé [7].

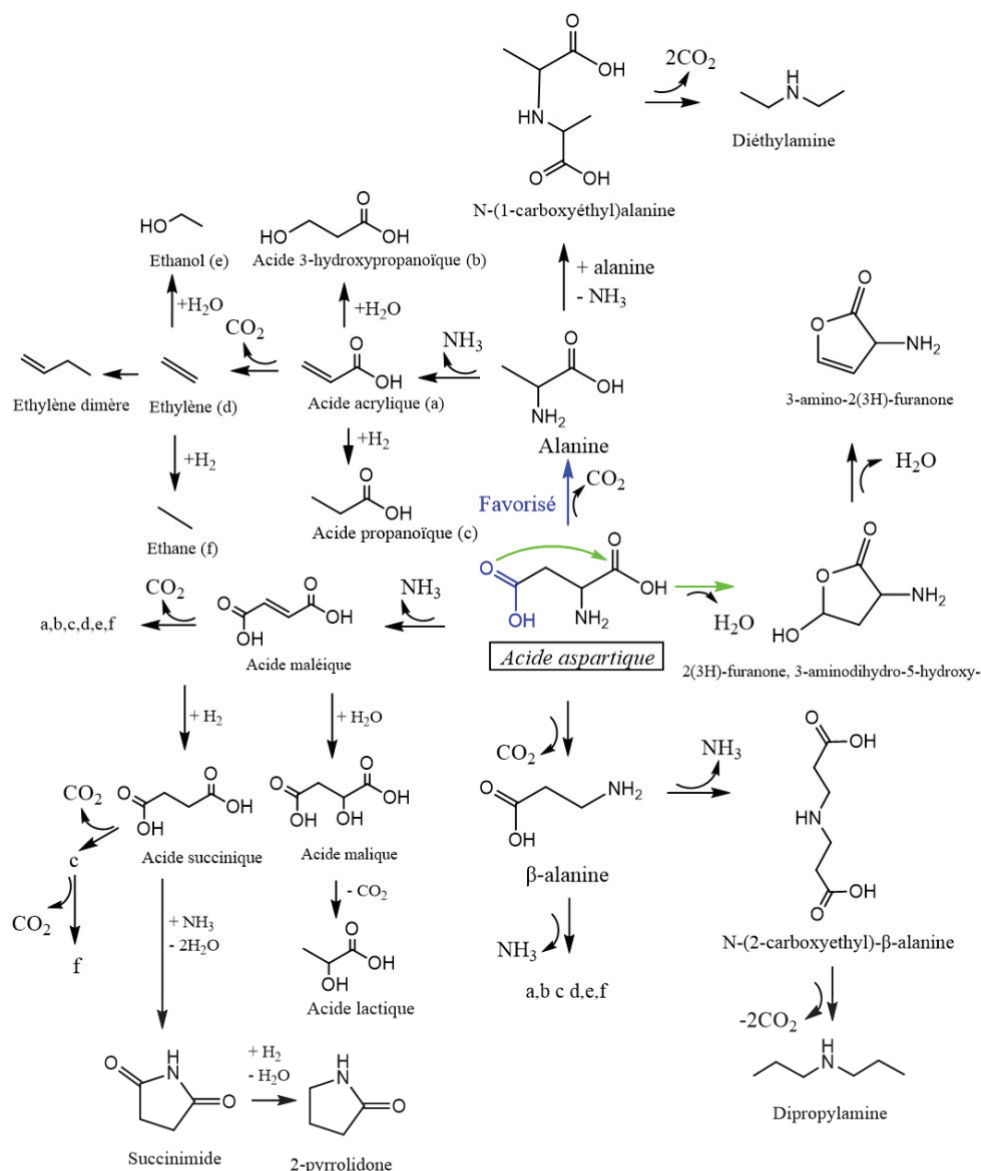


Figure IV-5: Schéma réactionnel de dégradation de l'acide aspartique en conditions d'HTL (inspiré de [2,7,8])

Dégradation des acides aminés aromatiques :

D'après l'aminogramme de *C. sorokiniana*, la phénylalanine et la tyrosine sont les acides aminés aromatiques les plus présents. Le schéma réactionnel de la phénylalanine en conditions de liquéfaction hydrothermale a été étudié dans la littérature, la Figure IV-6 regroupe les voies réactionnelles retenues. Il y a une compétition entre la formation d'acide cinnamique par désamination et de phényléthylamine par décarboxylation [4]. Chen et al. (2014) [9] ont étudié la dégradation de la phénylalanine et montré qu'entre 220 et 280 °C celle-ci est dégradée en phényléthylamine par décarboxylation puis à plus haute température (310 – 340 °C) et temps de séjour, en styrène, le produit de dégradation de l'acide cinnamique. Changi et al. [10] montrent que la phényléthylamine est le produit principal dans la plupart des

conditions mais comme Chen et al., ils observent une forte hausse du rendement en styrène et phényléthanol à 350 °C et 60 min [9]. La production de styrène est également confirmée par les analyses LC-MS réalisées par Changi et al. et la formation de polymères de styrène a été observée à haute température et temps de séjour [10]. Tout comme pour les acides aminés aliphatiques, la formation de dicétopiperazines peut être observée grâce au groupement phényl non polaire attaché à l'acide aminé [1].

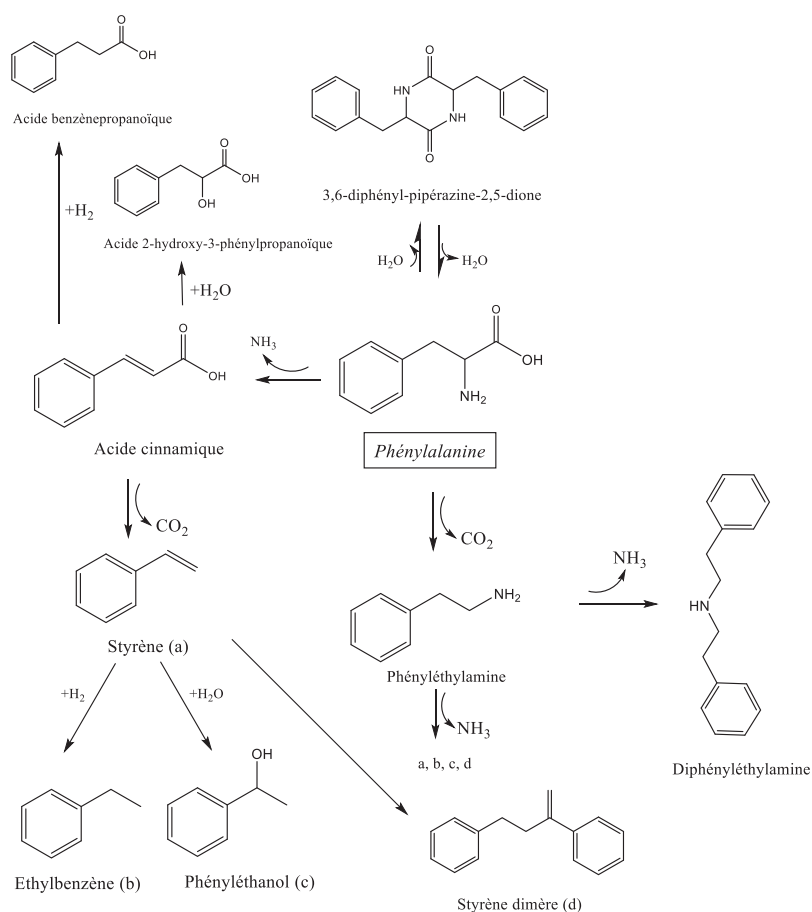


Figure IV-6 : Schéma réactionnel de dégradation de la phénylalanine en conditions d'HTL (inspiré de [4])

Mehta et al.[11] ont prouvé la formation de molécules cycliques azotées par réaction du phénylamine avec des cétones, on peut donc supposer une interaction entre le phényléthylamine et les cétones cycliques issues de la dégradation des polysaccharides pour former des composés à haut poids moléculaire.

Dans le cas de la tyrosine, le groupement latéral n'est plus un groupement phényl mais un phénol. Les produits de dégradation seront donc similaires à ceux observée pour la phénylalanine mais il y aura un groupement hydroxy supplémentaire sur le cycle aromatique. Par exemple, l'éthylbenzène obtenu avec la phénylalanine correspond au phénol, 4-éthyl dans le cas de la tyrosine. Et dans le cas du tryptophane (autre A.A. aromatique présent en faible quantité), c'est le groupement indole qui pourra être observé dans les produits de dégradation.

Dégradation des acides aminés basiques :

L'arginine est l'acide aminé basique le plus abondant chez *C. sorokiniana* mais aucune étude n'a été publiée quant à sa dégradation en conditions d'HTL. Abdelmoez et al. (2010) indiquent que celui-ci est décomposé très rapidement mais aucune information n'est donnée sur les produits de dégradations obtenus [3]. On s'intéressera donc d'avantages à la lysine. Dans ce cas, la fonction basique mène à la même réaction de cyclisation que celle observée avec les acides aminés acides mais cette fois-ci, le groupement nucléophile est la fonction amine en fin de chaîne latérale, on appelle cette réaction : la lactamisation [12]. Le produit obtenu est le caprolactame comme illustré en Figure IV-7. Selon Abdelmoez et al. (2007) [13], la lysine a la plus basse énergie d'activation (52 kJ/mol), ce qui facilite sa dégradation pendant l'HTL. Fan et al. ont observé la formation de piperidine et de caprolactame après HTL de la lysine à 250, 300 et 350 °C [14,15], ce qui confirme que la lactamisation et la formation de piperidine sont les principales voies réactionnelles.

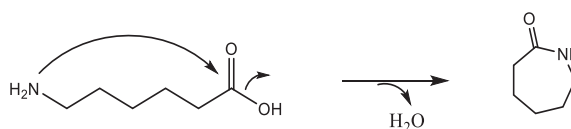


Figure IV-7 : Réaction de lactamisation

Un schéma réactionnel de dégradation de la lysine est proposé en Figure IV-8. En se basant sur ces observations, des suppositions peuvent être faites sur la réactivité de l'arginine. La fonction basique de la chaîne latérale pourrait réagir par cyclisation intra-moléculaire, dimérisation ou par réaction acide-base avec d'autres composés présents dans la bio-huile. Ensuite, on peut supposer une dégradation classique par désamination pour former l'acide 5-[(aminoiminométhyl)amino]pentanoïque et par décarboxylation pour former la N-(5-aminopentyl)guanidine. En vue de leur chaîne latérale, la dégradation de l'histidine et de la proline (autres A.A. basiques) pourrait mener à la formation d'imidazoles et de pyrrolidines respectivement dans la bio-huile.

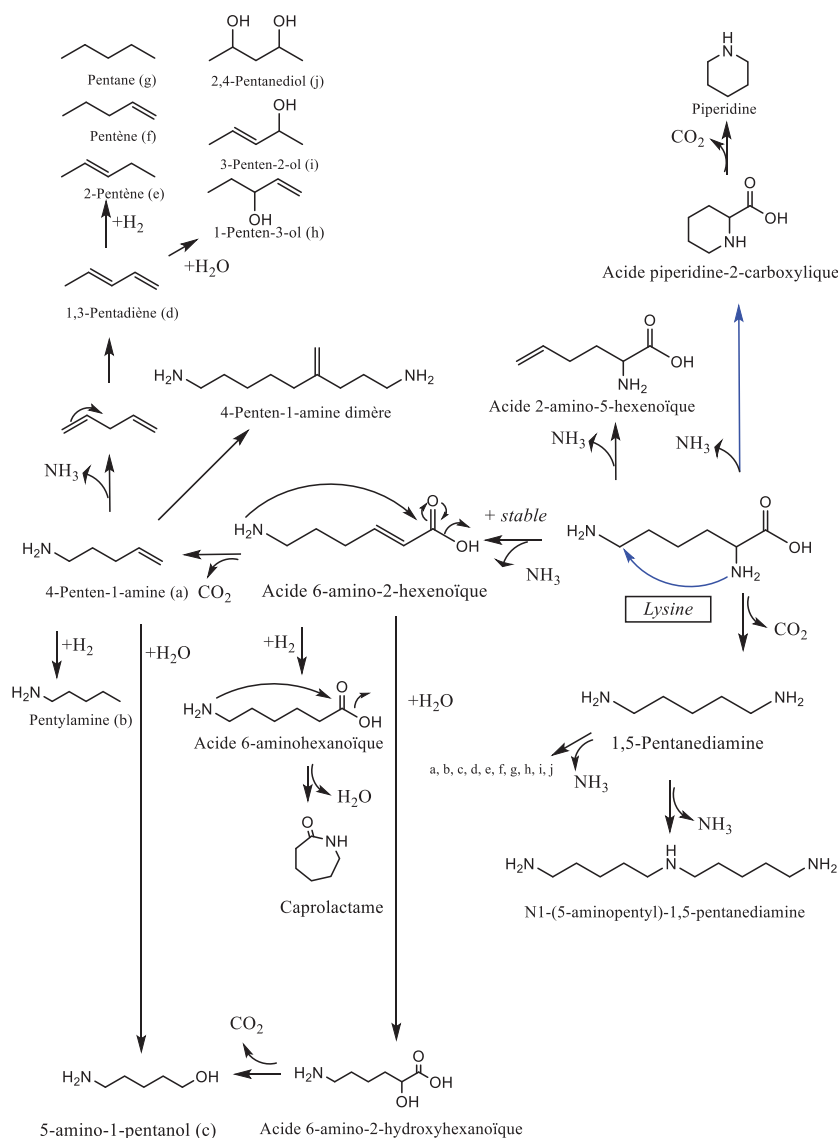


Figure IV-8 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de la lysine en conditions d'HTL

Dégradation des acides aminés hydroxylés :

Les acides aminés hydroxylés sont les moins présents dans la biomasse, on observe cependant une réactivité spécifique à cette famille, due à la présence du groupement hydroxy. Cette catégorie d'acides aminés est principalement dégradée par déshydratation (en milieu acide), la liaison C-OH est rompue avec l'aide d'une liaison C-H adjacente et une molécule d'eau est libérée, on observe alors la formation d'une double liaison selon la règle de Zaitsev qui favorise l'alcène positionné sur le carbone le plus substitué (Figure IV-9) [16]. Dans le cas de la sérine (Figure IV-11), on forme tout d'abord des imines puis des acides à chaîne courte après dégradation.

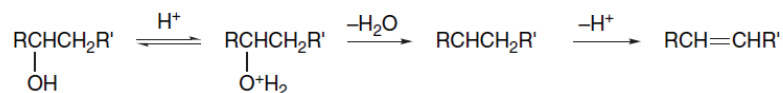


Figure IV-9 : Réaction de déshydratation [16]

La présence du groupe hydroxy permet également d'observer des réactions de rétro-aldolisation, réaction inverse de l'aldolisation, présentée en Figure IV-10. Dans le cas de la sérine, on observera la formation de formaldéhyde et de glycine [17].

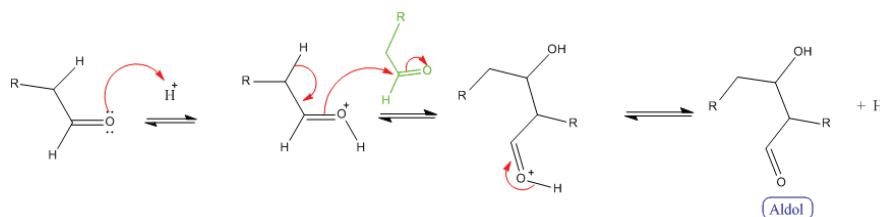


Figure IV-10 : Réaction d'aldolisation (dans notre cas réaction inverse de rétro-aldolisation)

De plus, comme expliqué dans la partie précédente sur la réactivité des acides aminés aliphatiques, des dicétopipérazines peuvent être formées par dimérisation de la glycine elle-même ou avec d'autres acides aminés.

La dégradation de la sérine, représenté en Figure IV-11 mène principalement à la formation de petites molécules polaires telles que les acides, amines, aldéhydes en phase aqueuse et de dioxyde de carbone dans le gaz. Cependant, selon Abdelmoez et al. (2007) [13], la sérine a l'énergie de décomposition la plus élevée (152 kJ/mol) parmi les autres acides aminés, elle ne va donc pas réagir en priorité [2].

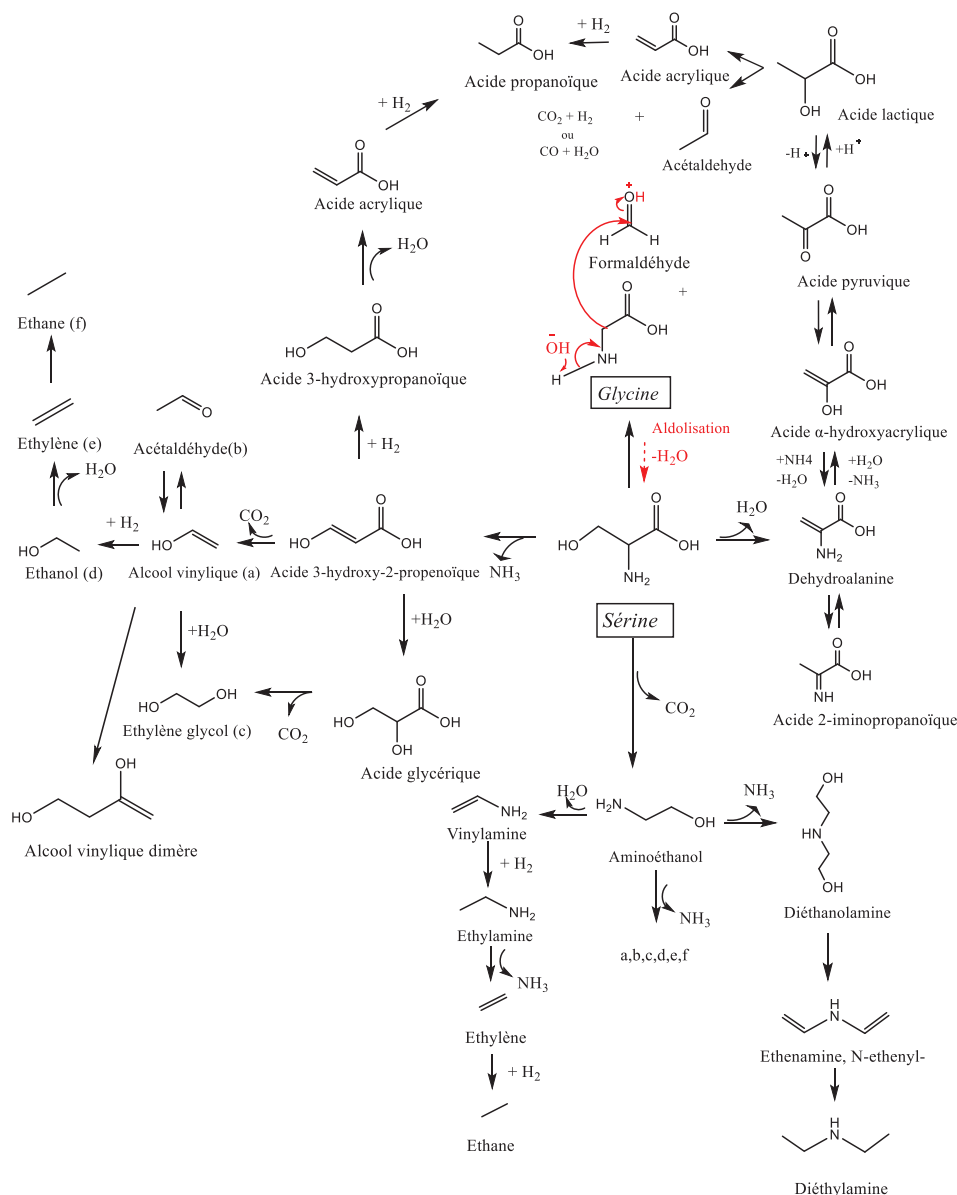


Figure IV-11 : Schéma réactionnel de dégradation de la sérine en conditions d'HTL (inspiré de [2,18])

La thréonine réagit comme la sérine mais les produits diffèrent par la structure moléculaire initiale. Après décarboxylation, l'aminopropan-2-ol et le 1-propen-1-amine sont produits au lieu de l'aminéthanol et du vinylamine. Après déshydratation, l'acide 2-hydroxybutyrique, le propanal et l'acide butyrique sont principalement formés. Cependant, tout comme pour la sérine, la glycine est formée après rétro-aldolisation mais dans le cas de la thréonine, l'aldéhyde correspondant est l'acétaldéhyde.

Dégradation des acides aminés soufrés :

Les acides aminés soufrés tels que la cystéine ou la méthionine sont également présents chez *C. sorokiniana*. Ils réagissent comme les acides aminés hydroxylés mais au lieu de la

déshydratation, de l' H_2S est produit en phase gazeuse. Les mêmes produits représentés en Figure IV-11 sont alors observés. Seule la réaction de rétro-aldolisation, impossible sans fonction hydroxyle, n'est pas observée. L'hydrolyse en conditions sous-critique de cystéine et de méthionine (A.A. soufrés) peut également donner lieu à des réactions d'oxydation pour former des acides sulfoniques et sulfoniques [19].

Finalement, tous les acides aminés suivent les mêmes voies principales de dégradation, la décarboxylation et la désamination auxquelles vont s'ajouter des voies spécifiques liées à la fonction chimique présente sur la chaîne latérale de chaque famille. La plupart des produits formés sont des amines et acides carboxyliques à chaîne courte et des dicétopipérazines.

Cependant, dans le cas où les acides aminés ne seraient pas dégradés, on pourrait observer la formation d'imine ou « base de Schiff ». C'est une réaction classique des acides aminés en présence d'aldéhyde [20]. Il n'y a cependant pas d'information quant à la possibilité de cette réaction en conditions de liquéfaction hydrothermale.

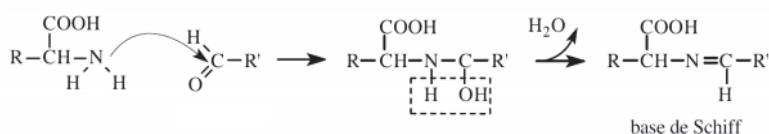


Figure IV-12 : Formation d'imine

1.1.2. Réactivité des acides gras

Le profil d'acides gras de *C. sorokiniana* (Figure IV-13) a également été étudié en détails afin d'émettre des hypothèses sur les produits de dégradation issu de l'HTL des lipides. *C. sorokiniana* est principalement composée d'acide palmitique (C16) et d'acide linoléique (C18 :2), on peut donc s'attendre à obtenir d'une part les alcanes ou alcènes correspondants (comme le pentadécane, l'heptadécane ou l'heptadiène ou heptène), et d'autre part, les amides correspondants, tels que l'hexadécanamide ou l'octadécanamide et octadécènamide. Des alcools pourront également être formés suite à l'hydratation des doubles liaisons qui restent disponibles. Finalement, le schéma de dégradation des lipides en conditions d'HTL présenté dans le Chapitre I4.2 et la composition spécifique de *C. Sorokiniana* nous oriente sur les produits à envisager suite à sa dégradation par HTL.

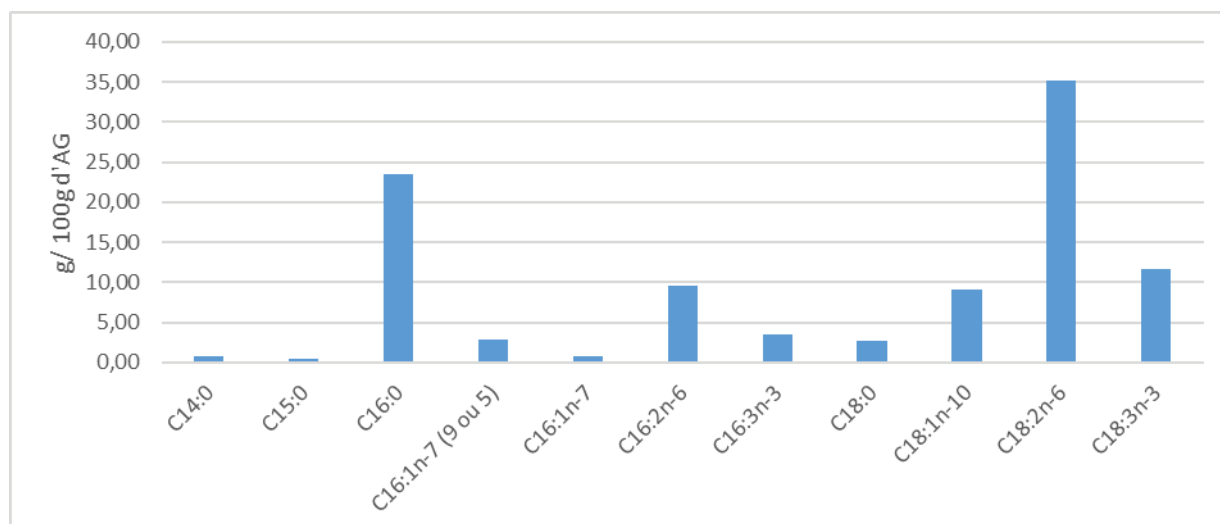


Figure IV-13 : Profil d'acides gras de *C. sorokiniana* (moyenne des 4 lots : 2020RAFCS1, 2020RAFCS2, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4)

1.1.3. Réactivité des autres molécules azotées de *C. sorokiniana*

Comme évoqué dans l'état de l'art, d'autres molécules azotées sont présentes chez *C. sorokiniana* comme les acides nucléiques ou les pigments. Ces molécules n'ont pas été analysées et quantifiées dans les lots de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* mais la chlorophylle a tout de même été prise en compte dans le schéma réactionnel pour représenter les pigments car elle est majoritaire [21]. De plus, de nombreuses études ont montré la présence de produits de dégradation azotés issus de la chlorophylle dans les bio-huiles [22,23].

Sa conversion dans l'eau à haute température a été étudiée par Changi et al.[24] et a permis de déduire un schéma réactionnel de dégradation de la chaîne phytol. Le cycle tétrapyrrole est quant à lui stable thermiquement mais on peut supposer l'apparition de pyrroles dans le milieu par hydrolyse dans certaines conditions. Pour le moment, aucune étude n'a mis en avant cette voie en liquéfaction hydrothermale.

1.1.4. Proposition d'un schéma réactionnel pour *C. sorokiniana*

Jusqu'à maintenant, aucune étude n'a présenté de schéma réactionnel prenant en compte la spécificité des différentes familles d'acides aminés [25–27]. L'étude bibliographique réalisée dans l'état de l'art et l'analyse des biomasses menée ci-dessus permet de proposer un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* en conditions de liquéfaction

hydrothermale, présenté en Figure IV-14.. Seule la voie de dégradation des carbohydrates et des pigments est basée uniquement sur la littérature car leur profil n'a pas été réalisé dans le cadre de cette thèse. Afin de ne pas surcharger le schéma réactionnel, les molécules ont été regroupées par familles, l'annexe 2-F expose les différentes catégories et les correspondances avec la biomasse.

Pour la voie de dégradation des lipides, le profil des acides gras de *C. sorokiniana* a été pris en compte. Les acides gras, alcanes, alcènes, alcools et esters considérés dans les familles ont donc entre 16 et 18 carbones.

La chlorophylle a été considéré comme le pigment principal, on suit donc la voie de dégradation proposée par Changi et al. [24].

Les molécules issues de la dégradation des protéines ont été déterminées en choisissant la dégradation des acides aminés les plus abondants chez *C. sorokiniana*, soit : la leucine, l'alanine et la glycine pour les acides aminés aliphatiques ; la sérine pour les acides aminés hydroxylés ; l'acide aspartique et glutamique pour les acides aminés acides ; la lysine pour les acides aminés basique et la phénylalanine pour les aromatiques. Chaque famille d'acide aminé a été identifiée par couleur afin de suivre les voies spécifiques, par exemple, en bleu, la formation de dicétopipérazines (DKP) par décomposition des acides aminés aliphatiques mais pour les acides aminés acides, les voies de l'acide glutamique et aspartique ne sont pas différenciées.

Les oligomères, pyrroles, pyrazines, pyrrolidones, amides, cyclopentenones, cyclopentanones, indoles et indolizines étant les produits issus de nombreuses combinaisons, aucune origine précise n'a été fixée. Tout comme les humines qui peuvent avoir des configurations variables venant de la combinaison des unités de sucres ou des naphthalènes.

La formation d'amides a été isolée dans le schéma car ces molécules peuvent être formées par la combinaison de tous les acides et amines présents dans le milieu (Tableau I-2). Les amides dont la structure est connue sont les amides provenant de la réaction entre les acides carboxyliques et les amines issus de la désamination des acides aminés. Cette combinaison mènerait à la formation d'octadécanamide dans le cas où l'acide stéarique (C18) est mis en jeu ou d'hexadécanamide dans le cas de l'acide palmitique (C16).

1.2. Comparaison avec *C. vulgaris*

La principale différence observée au niveau du profil d'acides aminés concerne les acides aminés acides (voir Figure IV-15). L'acide aspartique prédomine pour *C. sorokiniana*, alors que l'acide glutamique est majoritaire chez *C. vulgaris*. La sérine, la thréonine et la leucine sont d'avantages présentes chez *C. vulgaris* que chez *C. sorokiniana* et au contraire, la phénylalanine et la méthionine sont majoritaires chez *C. sorokiniana*. On observera peu de différence dans de composition de la bio-huile, mis à part pour le butyrolactone qui, amené par la présence d'acide glutamique, sera probablement présent en plus grande quantité.

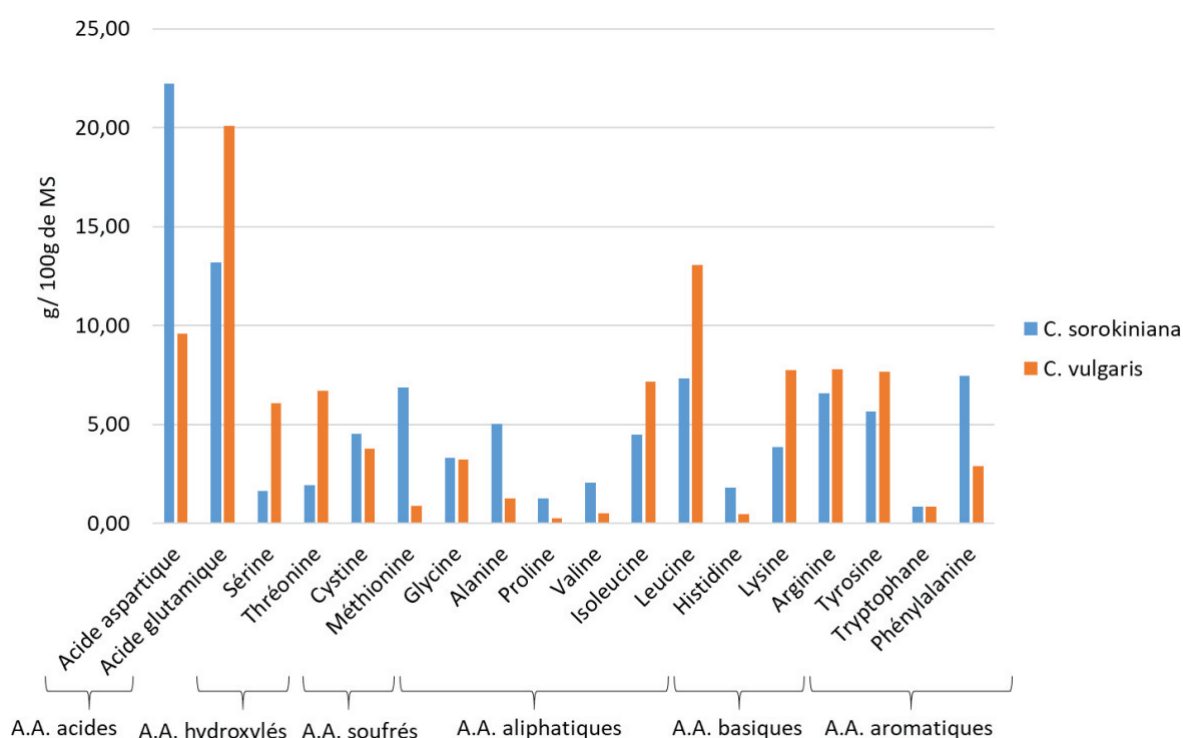


Figure IV-15 : Comparaison des profils d'A.A. de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*

Le profil d'acides gras de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* diffère par le nombre d'insaturations sur les acides gras à 18 carbones (voir Figure IV-16). L'acide oléique (C18 :1) est majoritaire dans le cas de *C. vulgaris* alors que c'est l'acide linoléique (C18 :2) chez *C. sorokiniana*. Et on remarque également qu'il y a plus d'AG à 16 carbones dans le cas de *C. sorokiniana*. On retrouvera donc dans la bio-huile, les AG non dégradés correspondants ainsi que les alcanes, alcènes ou alcools, le schéma réactionnel en conditions d'HTL reste donc identique dans le cas de *C. vulgaris*.

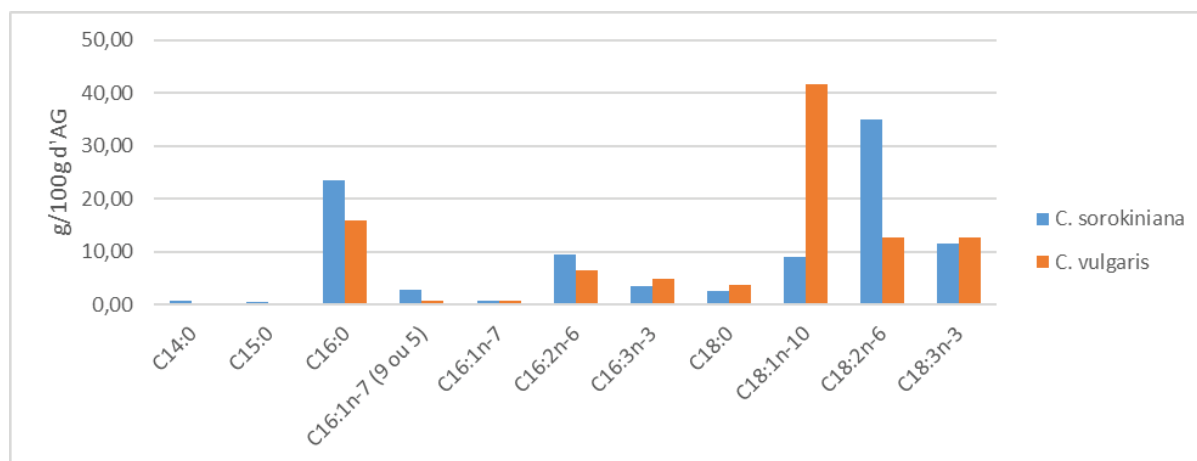


Figure IV-16 : Comparaison des profils d'AG de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*

1.3. Conclusion

Cette partie a permis de conclure sur les molécules qu'il est possible de détecter dans la bio-huile suite à l'HTL de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*. Suite à l'HTL de *C. sorokiniana*, les produits de dégradation des différents acides aminés seront potentiellement visibles, notamment ceux provenant des acides aminés acides car ils sont majoritaires. Dans le cas de *C. sorokiniana*, c'est l'acide aspartique qui est majoritaire, on s'attend donc à détecter du succinimide et du 2-pyrrolidone alors que pour *C. vulgaris* c'est l'acide glutamique, le butyrolactone sera donc potentiellement plus formé dans ce cas. La formation de dicétopipérazines est également possible à partir de nombreuses familles d'acides aminés, il sera donc possible d'observer différents produits ayant cette structure. Les produits issus de la décomposition des lipides et de la chlorophylle sont aussi mis en évidence dans le schéma réactionnel, ils représentent une grande partie de la composition biochimique des micro-algues. On pourra s'attendre à retrouver des alcanes, alcènes ou acides gras à 16 ou 18 carbones et plus précisément, d'avantages d'acides gras à 18 carbones avec deux insaturations dans le cas d'HTL de *C. sorokiniana* et avec une insaturation pour *C. vulgaris*. On retrouvera également les amides correspondants à la longueur des acides gras. La dégradation des carbohydrates n'a pas été détaillée pour chacune des espèces car le profil des unités de sucres pour chaque espèce n'a pas pu être réalisé et que l'étude s'est focalisée sur la formation des composés azotés dans la bio-huile.

La prochaine partie va permettre de confirmer ou non la présence des voies réactionnelles présentées dans la Figure IV-14 à l'aide des analyses réalisées sur les bio-huiles et la phase aqueuse issue d'HTL de *C. sorokiniana*.

2. Confirmation du schéma réactionnel : analyse détaillée des produits issus de l'HTL

L'analyse détaillée de la bio-huile et de la phase aqueuse a été réalisée sur les produits issus d'HTL de *C. sorokiniana*. Le produit présentant le plus d'intérêt en termes de valorisation dans la chaîne de procédé étant la bio-huile, une attention particulière a été portée sur son analyse. Ces analyses permettront de valider ou non les voies réactionnelles présentées dans le schéma réactionnel proposé en Figure IV-14.

2.1. Etude de *C. sorokiniana*

2.1.1. Analyse de la fraction légère de la bio-huile

Les méthodes analytiques utilisées ne permettent pas d'analyser la bio-huile dans son intégralité [22]. Seule la fraction la plus légère, injectée dans la colonne GC-MS est caractérisée, soit les molécules pouvant se vaporiser à une température inférieure ou égale à 250 °C. L'analyse d'un échantillon de bio-huile par ATG (Figure IV-17, a) nous confirme que la GC-MS permet de caractériser environ 50 % de l'échantillon que nous désignerons comme la partie légère de la bio-huile. En comparant l'analyse DTG (Figure IV-17, b) de bio-huile issue de micro-algues avec l'analyse DTG de Anouti et al.[28] utilisant des drêches de cassis, on se rend compte que le pic à ~380 °C est très peu présent dans son analyse. La principale différence entre ces deux biomasses étant la quantité en lipides (3,5 % dans les drêches contre 23,2 % pour les micro-algues), on peut penser que ce pic correspond aux acides carboxyliques, alcanes, alcènes ou amides formés lors de l'HTL.

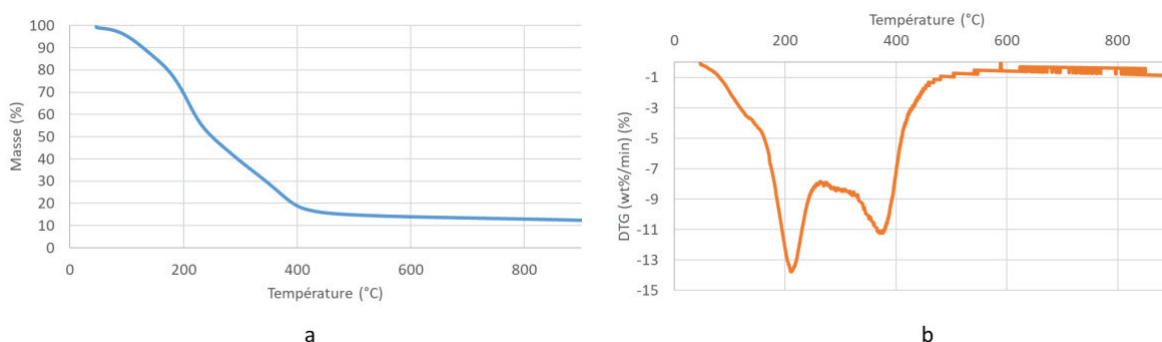


Figure IV-17: ATG (a) et DTG (b) des bio-huiles issues d'HTL du lot 2020RAFCS1 à 350 °C, 5 min et 17 % de MO

Torri et al. (2016) [22] ont réalisé une analyse couplant ATG et GC-MS (appelé Py GC-MS) qui permet de fragmenter l'échantillon en fonction de la température et d'observer le chromatogramme correspondant. L'analyse obtenue pour la bio-huile de *C. vulgaris* est représentée en Figure IV-18 et confirme que les acides gras, stérols et hydrocarbures se volatilisent à des températures supérieures à 300 °C. Considérant la température utilisée lors de l'analyse par GC-MS, ces molécules ne seront pas observées. Cependant, l'analyse GC*GC-MS se déroulant à des températures plus élevées, des traces d'acides gras et de stérols pourront être observées.

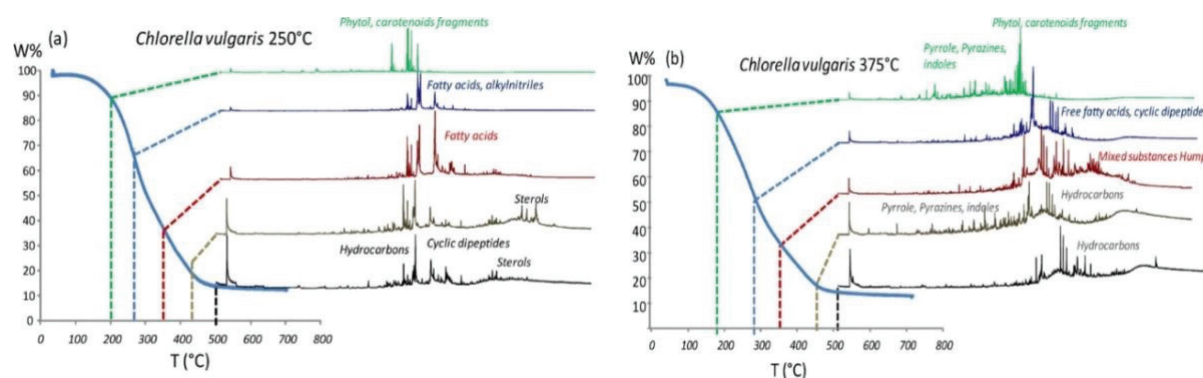


Figure IV-18 : Py GC-MS de bio-huile issue d'HTL de *C. vulgaris* [22]

On remarque également que la taille des molécules détectées en GC-MS est de maximum 300 Da et cette fraction représente environ 15 % de l'échantillon sur l'analyse GPC-SEC (Figure IV-19). Il y a une différence entre la valeur donnée par l'ATG (50 %) et par la GPC-SEC (20 %) car les masses molaires sont exprimées en équivalent polystyrène dans le cas de la GPC-SEC. Si on se fie à l'analyse par ATG, on remarque que si 50 % de l'échantillon est analysée on se trouve au milieu de pic le plus élevé sur la GPC (courbe bleue à 0,5 sur la Figure IV-19) correspondant probablement aux acides gras. C'est pourquoi ils seront difficiles à détecter lors de l'analyse par GC ou GC*GC-MS. Cette analyse donne également une idée de la taille des molécules lourdes non analysées.

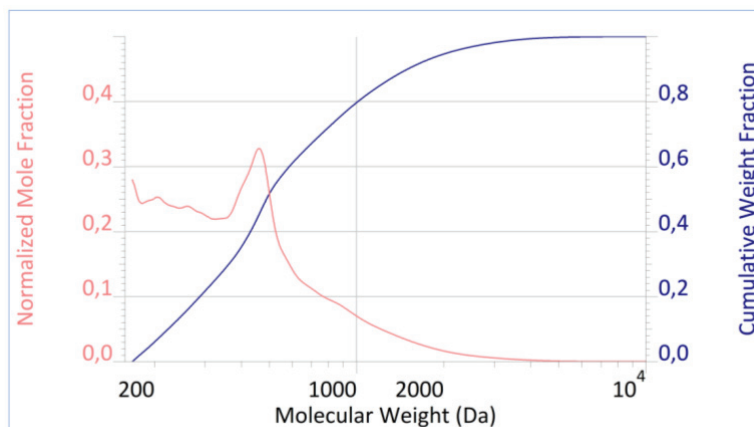


Figure IV-19 : GPC-SEC de bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS1 à 350 °C, 20 min et 10 % de MO

Identification par GC-MS et GC*GC-MS :

L'analyse de la fraction légère de la bio-huile a été réalisée par GC-MS sur les 30 essais du plan d'expérience n°1 (voir Tableau II-9) donc sur des bio-huiles issues d'un lot de *C. sorokiniana* carencé et d'un lot non carencé. Les pyrazines sont éluées en premier par la colonne, on trouve ensuite les isomères de phytols et phytènes, les dicétopipérazines, les amides puis les pyrrolidines en fin de chromatogramme (voir Figure IV-20). L'identification est cependant plus difficile en fin de chromatogramme.

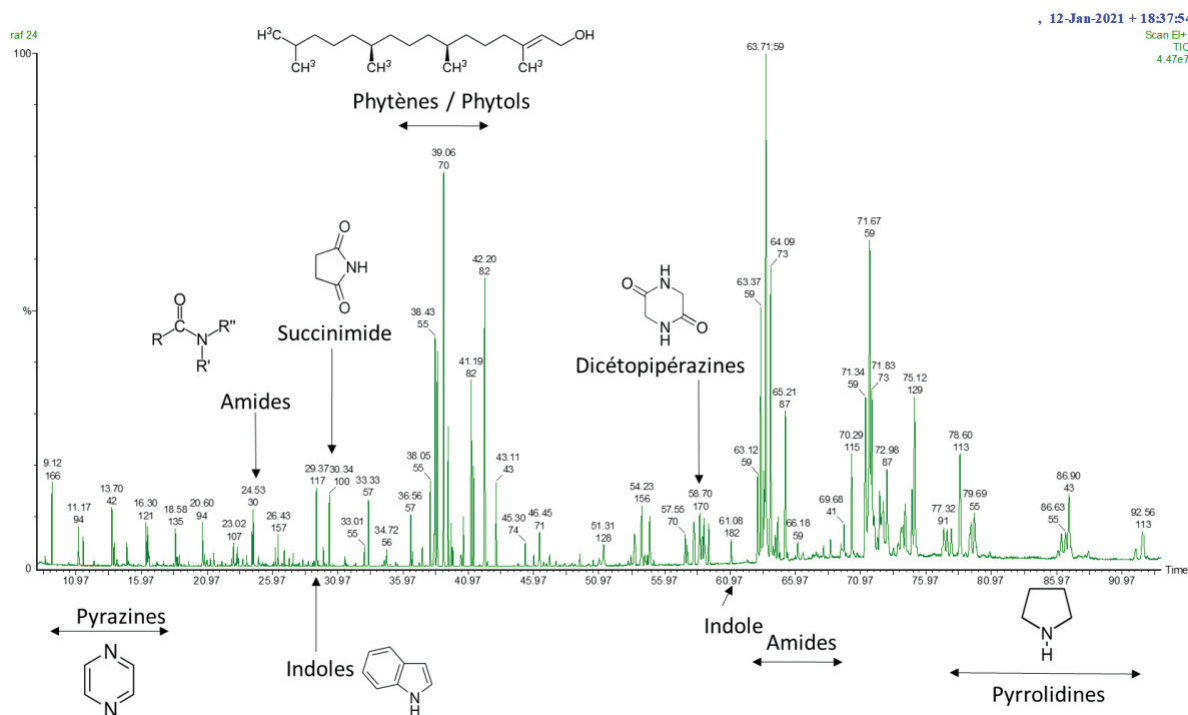


Figure IV-20 : Exemple d'un chromatogramme GC-MS de bio-huile issue d'HTL de *C. sorokiniana* (2020RAFCS1) à 270 °C, 20 min et 17 % de MO

Les analyses GC*GC-MS ont été réalisées sur les 15 essais du plan d'expérience n°2 (voir Tableau II-11) donc sur des bio-huile issues d'un lot de *C. sorokiniana* carencé (2020RAFCS4). La Figure IV-21 montre un exemple de chromatogramme GC*GC-MS de bio-huile.

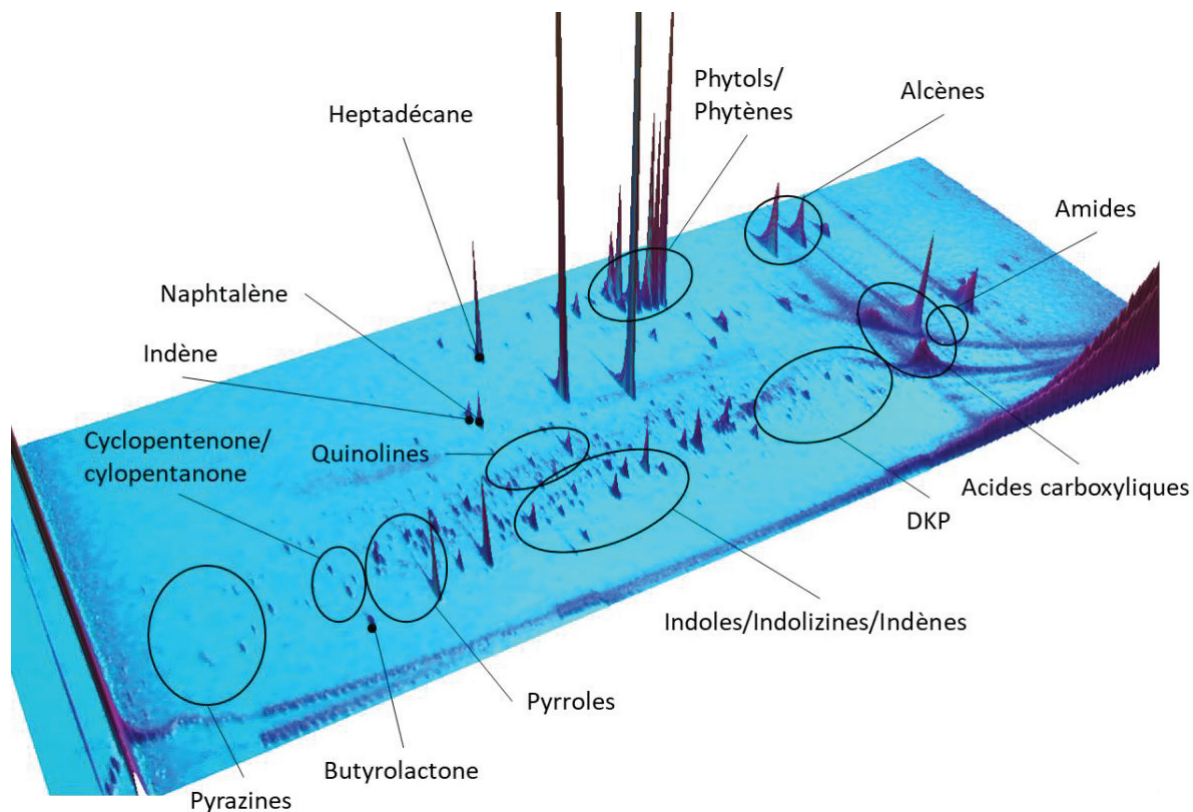


Figure IV-21 : Exemple d'un chromatogramme GC*GC-MS de bio-huile issue d'HTL de *C. sorokiniana* (2020RAFCS4) à 350 °C, 5 min et 10 % de MO

Le Tableau IV-1 regroupe l'ensemble des molécules identifiées par GC-MS et GC*GC-MS dans les conditions d'HTL correspondant aux plans d'expérience n°1 et n°2 et pour les trois lots de micro-algues (2020RAFCS1, 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4). Les cases colorées en vert montrent une correspondance avec la liste théorique en annexe 2-F.

Tableau IV-1 : Molécules détectées en GC-MS et en GC*GC-MS (en vert : correspond à la liste de molécules proposés dans la Figure 14)

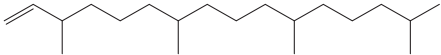
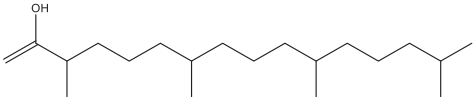
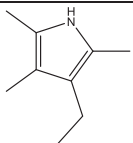
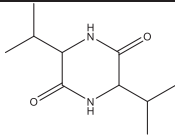
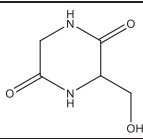
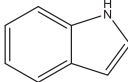
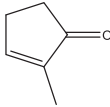
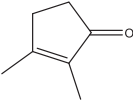
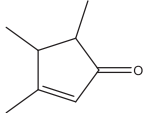
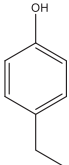
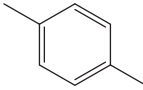
Famille	GC-MS	Dans les deux analyses	GC*GC-MS
Phytènes Phytols		Hexadécène,3,7,11,15-tétraméthyl- 2-Hexadécén-1-ol,3,7,11,15-tétraméthyl-	
	1H-pyrrole,1-éthyl	1H-pyrrole,2(ou3)-éthyl-3,4,5-triméthyl	1H-pyrrole,4-éthyl-2,3-diméthyl-
	1H-pyrrole,1-pentyl 1H-pyrrole,2,3,4-triméthyl		1H-pyrrole-2-carboxaldéhyde 1H-pyrrole,2,3,4,5-tétraméthyl- 1H-pyrrole,3-éthyl-2,4-diméthyl 1H-pyrrole-2-carboxaldéhyde, 1-méthyl 1H-pyrrole,3,5-diméthyl-2-phényl- 1H-pyrrole,1-butyl 3-Acétyle-1-méthylpyrrole
Phytostérols			Phytostérols Acide palmitique (C16) Acide palmitoléique (C16 :1) C16 :2 C16 :3 Acide stéarique (C18) Acide oléique (C18 :1) Acide linoléique (C18 :2) Acide α-linolénique (C18 :3) Palmitate de méthyle Linoléate de méthyle
Acides gras			
	Palmitoléate d'éthyle Palmitoléate de méthyle Linoléate d'éthyle		
	Hexadécane		Heptadécane
DKP		3,6-diisopropyl-pipérazine-2,5-dione 3-hydroxyméthyl-pipérazine-2,5-dione	(3S,6S)-3-butyl-6-méthyl-pipérazine-2,5-dione 3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione, 3,6-bis(2-méthylpropyl)-pipérazine-2,5-dione (3S,6S)-3-benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione 1,3-propanediamine
Diamines Alcènes (3)	Styrène		
	Pyrazine méthyl Pyrazine,3-éthyl-2,5-diméthyl Pyrazine,2,6-diéthyl	Pyrazine,2,5-diméthyl Pyrazine,2-éthyl-6(ou5)-méthyl	
Indoles/indolizines	Indolizine	Indole	Indolizine,2-méthyl- Indolizine,2-méthyl-6-éthyl Indolizine,2,6-diméthyl- 1H-Indole,2,3,5-triméthyl Indole,2,3,5-triméthyl- 1H-indole,3-méthyl 1H-indole,1-éthyl
Composés cycliques oxygénés			2,5-Furandicarboxaldéhyde 2-Furancarboxaldéhyde,5-méthyl Furan,2-propyl-

Famille	GC-MS	Dans les deux analyses	GC*GC-MS
Cyclopentanones/cyclopentanones	Cyclopentanone	2-cyclopenten-1-one, 2-méthyl	2-cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-méthyl-
	Cyclopentanone, 2-méthyl	2-cyclopenten-1-one, 2,3-diméthyl	2-cyclopenten-1-one
	1H-Indène, 2,3-dihydro-1,1,4,6-tétraméthyl	2-cyclopenten-1-one, 3,4,5-triméthyl	2-cyclopenten-1-one, 2,3,4-triméthyl
Indènes	1H-Indène, 1-éthyl-2,3-dihydro-		
	Phénol	Phénol-4-éthyl	Phénol, 2-éthyl, 4-méthyl
Dérivés phénoliques	Phénol 4-méthyl	p-xylène	Phénol, 3,4-diméthyl-
	Naphtalène, 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-triméthyl-		Naphtalène, 1,5-diméthyl-
Naphtalènes	Naphtalène, 1,2-diméthyl		Naphtalène, 1,2-dihydro-4,5,7-triméthyl
	Pyrolidone, 1-(oxo-7-méthyl-8-hexadécényl)		Quinoline, 4,8-diméthyl-
Pyrolidines et quinolones	Pyrolidone, 1-(oxo-14-méthyl-8-hexadécényl)		Quinoline, 3-méthyl-
			Hexadécaneamide
Amides	Caprolactame		N-[2-hydroxyethyl]succinimide
	N-[2-hydroxyethyl]succinimide		3-acétyl-1H-pyrroline
Autres molécules seules	Pyrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-méthylpropyl)		1,2-cyclopentanedione, 3-méthyl-
	9H-Pyrido[3,4-b]indole, 1-méthyl-		2-piperidinimine
	Toluène		Acide 11,14-eicosadiénoïque, méthyl ester
	Décanenitrile		Acide pranoïque, étheryl ester
	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)		Acide 2-propénoïque, 2-phényléthyl ester
	2-Undécane, 6,10-diméthyl		Butyrolactone
	Di-alanyl-L-leucine		
	1-Tridécyne		
	Hexanal, 0-méthylloxime		
	1-Undécène, 9-méthyl		
	1-Undécène, 5-méthyl		
	1-docosène		
	7-Nonenamide		
	Dodécaneamide		
	Acétamide, N-(2-phényléthyl)		
N,N-diméthyl(dodécaneamide			
N-(3-méthylbutyl)acétamide			
1,3-docosénamide, (Z)			

Afin de comparer les deux méthodes analytiques, seules les analyses des lots carencés en azote, 2020RAFCS3 et 2020RAFCS4, sont prises en compte. On enlève donc les molécules détectées uniquement dans les bio-huiles issues d'HTL de 2020RAFCS1, soit les molécules suivantes : le caprolactame, l'undécène,9-méthyl, la pyrrolidine, 1-(oxo-7-méthyl-8-hexadécenyl) et pyrrolidine, 1-(oxo-14-méthyl-8-hexadécenyl), le 9H-pyrido[3,4-b]indole, 1-méthyl- et le 7-nonenamide.

On remarque une différence au niveau des molécules détectées en GC-MS et en GC*GC-MS. La principale différence est dans la détection des acides carboxyliques à 16 et 18 carbones, issus de l'hydrolyse des lipides. Deux pics correspondants à ces molécules sont visibles sur la GC*GC-MS et pas sur la GC-MS. Cela est principalement dû au fait que la température appliquée lors de l'analyse GC-MS est trop basse (maximum 250 °C) par rapport à la température de volatilisation des acides gras qui se situe à environ 280°C [22]. L'analyse n'est cependant pas adaptée car on observe une traînée de ces deux pics, ces molécules sont retenues par la colonne, on ne peut donc pas identifier précisément de quel acide carboxylique il s'agit et du nombre d'insaturations. Plus globalement, la GC*GC-MS permet de séparer d'avantages les pics des familles de composés hétérocycliques, on identifie d'avantages de pyrroles, de dicétopipérazines, d'indoles et d'indolizines. Certaines familles ne sont pas du tout identifiées par GC-MS comme les quinolines ou les furanes. La GC-MS permet cependant d'identifier plus de pyrazines et détecte les indènes contrairement à la GC*GC-MS. Les molécules détectées à la fois en GC-MS et en GC*GC-MS sont représentées dans le Tableau IV-2.

Tableau IV-2 : Molécules détectées en GC-MS et en GC*GC-MS

Molécules	Structure chimique
Hexadécène,3,7,11,15-tétraméthyl-	
2-Hexadécèn-1-ol,3,7,11,15-tétraméthyl-	
1H-pyrrole,2-éthyl-3,4,5-triméthyl	
3,6-diisopropylpipérazine-2,5-dione	
3-hydroxyméthyl-pipérazine-2,5-dione	
Indole	
2-cyclopenten-1-one,2-méthyl	
2-cyclopenten-1-one,2,3-diméthyl	
2-cyclopenten-1-one,3,4,5-triméthyl	
Phénol-4-ethyl	
p-xylène	

Validation des voies réactionnelles par GC*GC-FID :

La chromatographie 2D couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC*GC-FID) a permis de suivre l'évolution de certaines molécules formées en HTL au cours du temps et de la température (Tableau II-11). La Figure IV-22 montre un exemple de chromatogramme. On remarque une différence d'intensité des pics entre le chromatogramme de GC*GC-MS et de GC*GC-FID, principalement au niveau des pics d'acides carboxyliques. Ces espèces sont effectivement présentes en grande quantité et très retenues par la colonne, ce qui implique un signal beaucoup plus élevé en GC*GC-FID et une coélution des pics. Globalement, plus de molécules ont été détectées par GC*GC-FID et seule une partie a pu être identifiée par comparaison avec la GC*GC-MS.

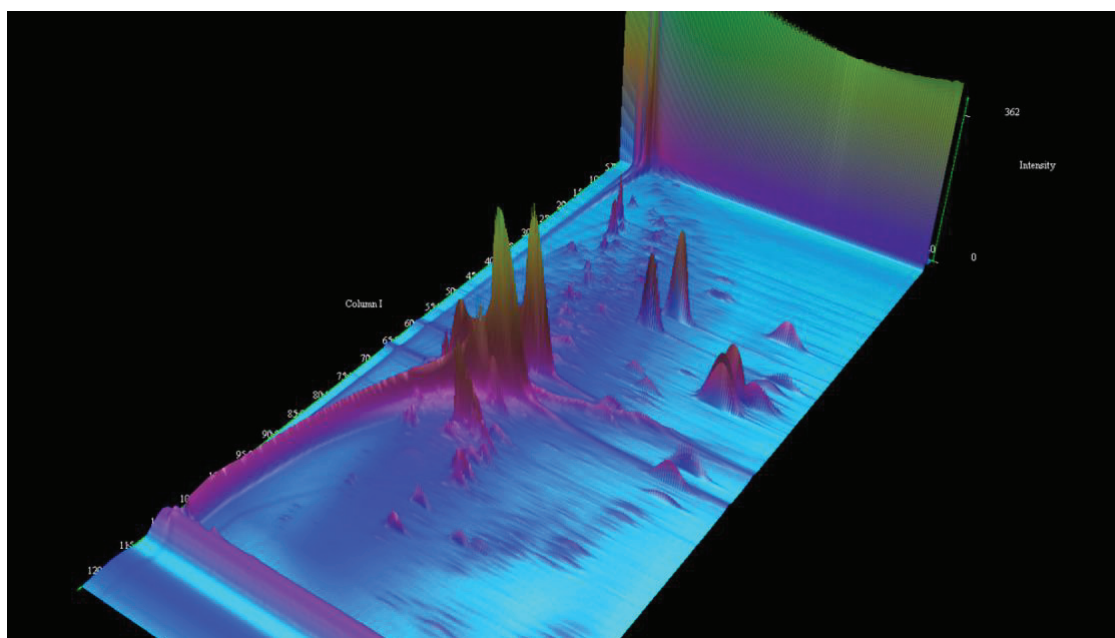


Figure IV-22 : Exemple de chromatogramme GC*GC-FID de bio-huile issue d'HTL de *C. sorokiniana* (2020RAFCS4) à 350 °C, 5 min et 10 % de MO

Le profil des molécules effectué à l'aide des analyses GC*GC-FID sur la bio-huile et par GC-MS sur la phase aqueuse a permis de confirmer certaines voies réactionnelles. La Figure IV-23 illustre l'hydrolyse des lipides. La quantité d'acides carboxyliques et des différents produits issus de l'hydrolyse : esters, alcane, amide dans la bio-huile et glycérol en phase aqueuse ont permis de suivre la réaction d'hydrolyse des lipides en conditions de liquéfaction hydrothermale au cours du temps et de la température. Cette étude confirme les voies proposées dans le schéma réactionnel précédent (Figure IV-14). On observe la formation de glycérol en phase aqueuse jusqu'à 350 °C et 5 min, ce qui montre que l'hydrolyse des triglycérides a lieu jusqu'à cette température. Cependant, des réactions ont lieu en parallèle de l'hydrolyse. On remarque notamment la formation d'esters et d'alcane liée aux réactions

d'estérification, de décarboxylation et d'hydrogénation jusqu'à 250 °C. Au-dessus de 300 °C, la formation d'amides est majoritaire car on diminue la quantité d'acides carboxyliques tout en augmentant la quantité d'amides.

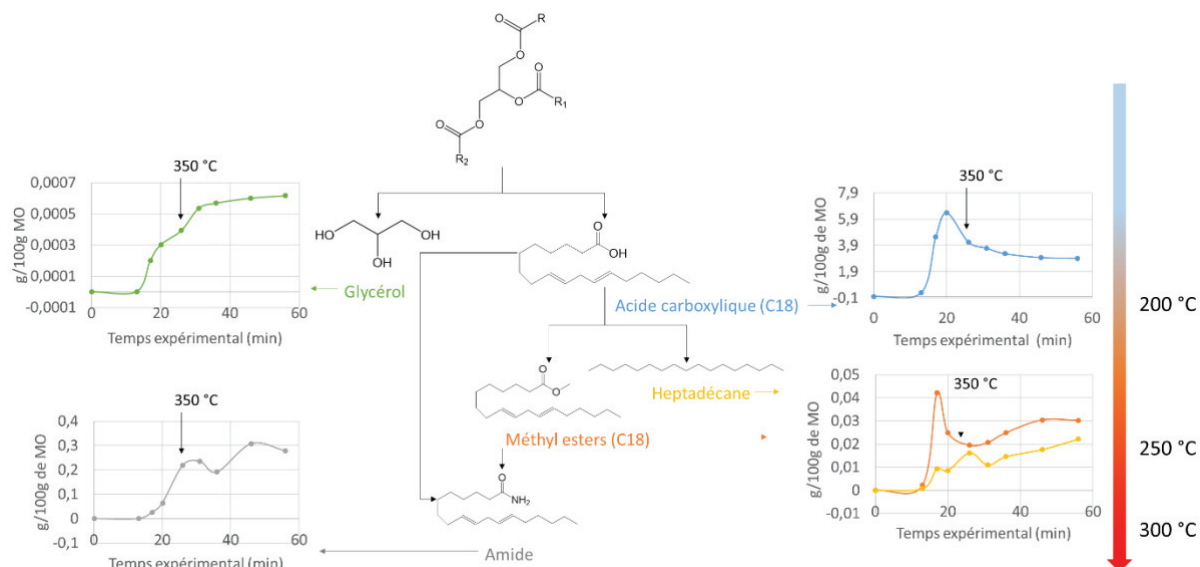


Figure IV-23 : Hydrolyse des lipides avec le profil du glycérol (vert), des acides carboxyliques (C18) (bleu), de l'heptadécane (jaune), des méthyl esters (orange) et des amides (gris) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2020RAFCS4

De la même manière, un schéma de dégradation de la chlorophylle en conditions d'HTL a été proposé Figure IV-24. On remarque, par la formation de phytols, que c'est principalement entre 200 et 250 °C que l'hydrolyse de la chlorophylle a lieu. Cependant, on observe une réaction consécutive de déshydratation des phytols à partir de 300 °C. Les produits intermédiaires proposés en Figure IV-14, tels que le dihydrophytol ou les néophytadiènes n'ont pas été détectés.

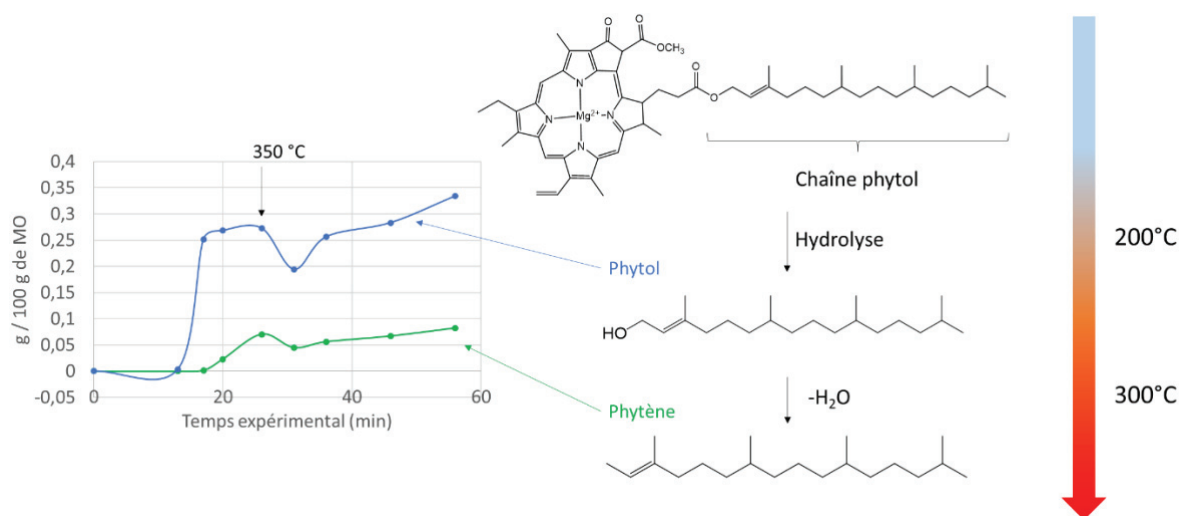


Figure IV-24 : Hydrolyse de la chlorophylle avec le profil du phytol (bleu) et du phytène (vert) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2020RAFCS4

L'analyse GC*GC-FID a également permis de détecter des molécules lourdes qui n'ont pas été identifiées par GC*GC-MS car la colonne intégrée à l'appareil de GC*GC-FID monte à des températures plus élevées que celle utilisée pour la GC*GC-MS (voir Chapitre II4.5.4). Parmi les molécules à haut poids moléculaire, les stéroïdes ont pu être identifiés. Leur quantification a été faite à différentes températures et temps de séjour (voir Figure IV-25) et on remarque leur apparition au cours du temps avec la montée en température.

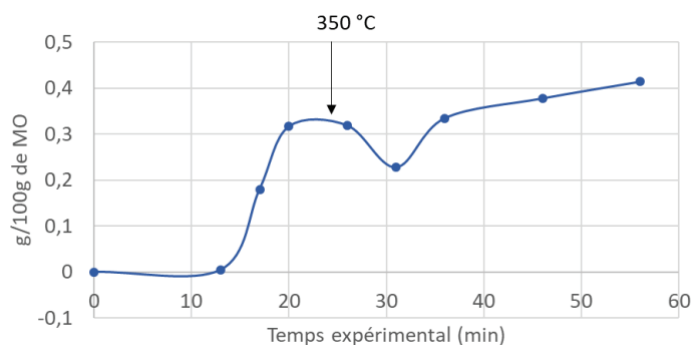


Figure IV-25 : Profil des phytostéroïdes lors d'une HTL à 350 °C avec 2020RAFCS4 (indication quand le palier est atteint)

Modification du schéma réactionnel :

Un schéma réactionnel spécifique à la fraction légère de l'huile a pu être déduit de ces observations. Ce schéma réactionnel inclut l'analyse du lot carencé et non carencé de *C. sorokiniana*. Certaines voies seront donc amplifiées par la présence de protéines dans le cas où l'algue n'a pas été carencée, notamment la dégradation des acides aminés. Par exemple, on détecte le caprolactame lors du traitement de l'algue non carencée associé à la présence de lysine dans les micro-algues. Les familles indiquées en rouge sont celles où une molécule a été identifiée soit par GC-MS, soit par GC*GC-MS ou GC*GC-FID.

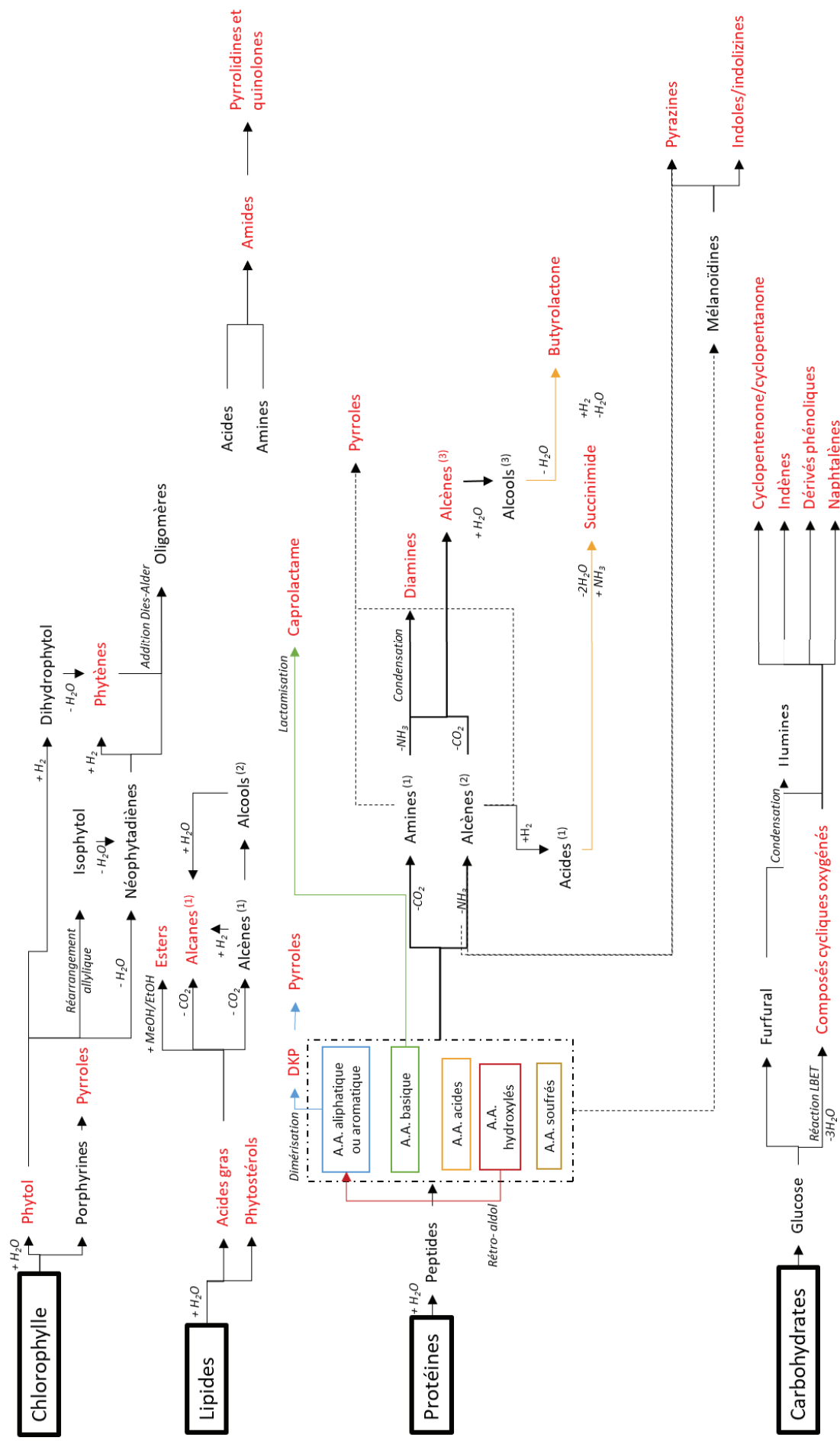


Figure IV-26 : Proposition de schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* en conditions d'HTL ciblé sur la fraction légère de la bio-huile

2.1.2. Analyse de la phase aqueuse

La phase aqueuse est principalement composée de molécules polaires telles que les amines et acides à chaîne courte, les cétones, aldéhydes et de molécules azotées ou oxygénées cycliques. L'analyse de la phase aqueuse permet d'émettre des hypothèses sur les voies réactionnelles qui ont lieu lors de la liquéfaction hydrothermale et notamment les voies de dégradation des acides aminés. Tout comme la bio-huile, la phase aqueuse n'est pas caractérisée dans son intégralité. La GC-MS permet d'analyser la fraction de phase aqueuse soluble dans le DCM et l'éthanol (voir Chapitre II.4.6.6) et les molécules volatiles jusqu'à 250 °C. Alors que la LC-QTOF permet d'analyser la phase aqueuse pure mais sera limitée dans l'identification des molécules à haut poids moléculaire (scan entre $m/z = 100-1700$).

Identification par GC-MS et LC-QTOF :

Comme expliqué dans le Chapitre II, un pré-traitement de la phase aqueuse a été mis au point afin de pouvoir identifier le maximum de composés. Celle-ci consiste à extraire la partie organique de la phase aqueuse avec du DCM et à lyophiliser et rediluer dans l'éthanol la partie aqueuse contenant les composés légers. De plus, une colonne Stabilwax a été utilisée afin de mieux séparer les composés. Le choix de la colonne a été détaillé dans le Chapitre II. Les analyses présentées ci-dessous ont été réalisées sur l'essai RAF 42 (300 °C – 20 min) avec la biomasse 2020RAFCS3.

Les chromatogrammes des deux extraits (DCM et éthanol) représentés ci-dessous, en Figure IV-27, montrent bien la complémentarité des deux solvants pour l'extraction et le Tableau IV-3 regroupe l'ensemble des composés identifiés par GC-MS.

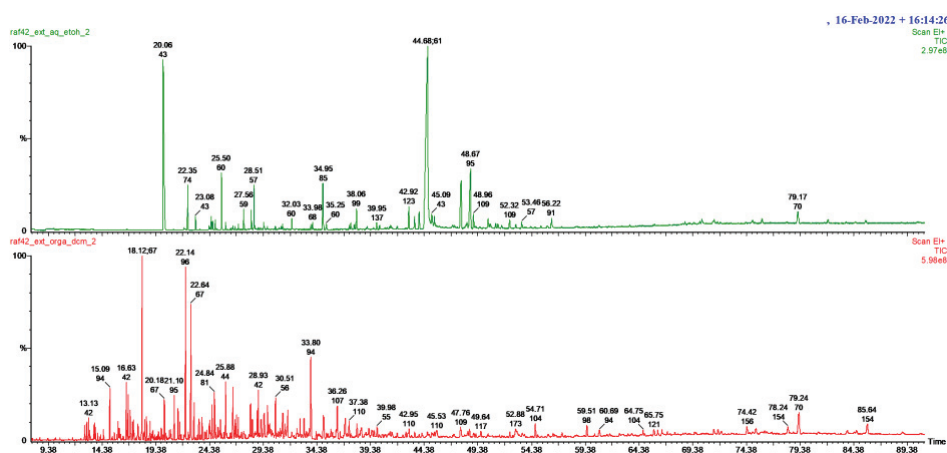


Figure IV-27 : Extrait de la phase aqueuse issue d'HTL à 300 °C et pendant 20 min avec 2020RAFCS3, lyophilisé et redilué dans l'éthanol en vert, extrait avec du DCM en rouge

Tableau IV-3 : Identification des composés de la phase aqueuse issue d'HTL à 300 °C et pendant 20 min avec 2020RAFCSS3

Famille	Fraction organique soluble dans le DCM	Fraction soluble dans l'éthanol
Aldéhydes et alcools		Acétaldéhyde
Alcanes ⁽²⁾		Acide propanoïque
		Acide propanoïque, 2-méthyl
		Acide butanoïque, 3-méthyl
DKP	3,5-diisopropylpipérazine-2,5-dione	pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-méthylpropyl)-
	pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-méthylpropyl)-	
	5,10-diéthoxy-2,3,7,8-tétrahydro-1h,6h-dipyrrolo[1,2-a;1',2'-d]pyrazine	
Amines ⁽¹⁾		Alanine
Alcènes ⁽³⁾	2-méthyl-1-butène	
Aldéhyde		Acétaldéhyde
Acides ⁽¹⁾		Acide propanoïque
		Acide propanoïque, 2-méthyl
		Acide 4-méthyl-pentanoïque
Acide ⁽²⁾		Acide propanoïque
		Acide propanoïque, 2-méthyl
		Acide butanoïque, 3-méthyl
Acides ⁽⁴⁾		Acétaldéhyde
		Acide propanoïque
		Acide propanoïque, 2-méthyl
		Acide propanoïque
Acides ⁽⁶⁾		Acide propanoïque, 2-méthyl
		Acide propanoïque
		Acide propanoïque, 2-méthyl
Pyrazines	Pyrazine	
	Pyrazine-éthyl	
	Pyrazine 2,5-diméthyl	
	Pyrazine 2,3-diméthyl	
	Pyrazine-méthyl	
	Pyrazine, 2-éthyl-5-méthyl	
	Pyrazine, 3-éthyl-2,5-diméthyl	
	Pyrazine, triméthyl	
Composés cycliques oxygénés	2-hexanoylfurane	
	5-éthyl-2-furaldéhyde	
	Cyclopentanone	
	Cyclopentanone, 2-méthyl	
	Cyclopentanone, 3-méthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 2-méthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 2,3-diméthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 3-méthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 2,3-diméthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 2,3,4-triméthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 3-éthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 4-diméthyl	
	2-cyclopenten-1-one, 2,3,4,5-tétraméthyl	
Cyclopentenones/cyclopentanones		

Famille	Fraction organique soluble dans le DCM	Fraction soluble dans l'éthanol
Dérivés phénoliques	Phénol	Phénol
	Phénol, 4-méthyl	
Pyrrolidines et quinolones	Pyrrolidine, 1-(1-cyclopenten-1-yl)	Pyrrolidine, 1-(1-cyclopenten-1-yl)
	2-pyrrolidinone, 1-méthyl	2-pyrrolidinone, 1-méthyl
	2-pyrrolidinone, 1-éthyl	2-pyrrolidinone, 1-éthyl
	2-pyrrolidinone, 1-propyl	2,5-pyrrolidinedione, 1-méthyl
	2-pyrrolidinone, 1 butyl	2,5-pyrrolidinedione, 1-éthyl
	2,5-pyrrolidiedione, 1-éthyl	2-pyrrolidinone
	2-pyrrolidinone	
Amides	Acétamide, N-(2-phényléthyl)	Acétamide, N-méthyl
	Acétamide, N-(2-méthylpropyl)	Acétamide, N-(2-méthylpropyl)
		Acétamide, N-(3-méthylbutyl)
		N,N-diéthylpropionamide
		Acétamide
Autres molécules seules	2-butanone, 3-méthyl	Glycérol
	3-hexanone	Butyrolactone
	2-hexanone	2-pipéridinone
	2-buténal, 2-méthyl	Acide acétique
	2-hexanone, 5-méthyl	Acide pentanoïque
	3-hexen-2-one, 5-méthyl	Acide heptanoïque
	Pyridine	Acide hexanoïque
	Pyridine, 2-éthyl	Acide benzènepropanoïque
	Pyridine, 2-méthyl	2(1H)-Pyridinone, 1,3-diméthyl
	Pyridine, 3-méthyl	3-Pyridinol, 2,6-diméthyl
	Pyridine, 2,6, diméthyl	3-Pyridinol, 2-méthyl
	2-piperidinone	3-Pyridinol, 6-méthyl
	Pipéridine, 1-(2-phényléthyl)	3-Pyridinol
	Ethanone, 1-(3-hydroxyphényl)	Caprolactame
	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)	
	Caprolactame	
	2-cyclohexen-1-one, 6-méthyl-3-(méthyléthyl)	
	Cyclooctanone, 2-méthyl	
	N-[2-hydroxyéthyl]succinimide	

Les principales familles de molécules détectées en phase aqueuse sont donc les dicétopipérazines, les pyrazines, les pyrrolidinones ou pyrrolidones, les cyclopentanes et cyclopentenones et les acides. Il faut cependant tenir compte que certains des pics ne peuvent pas être identifiées à cause de coélutions.

La chromatographie en phase liquide (LC) couplée à un détecteur (QToF) a permis de compléter cette analyse. Le but était de savoir dans la liste de molécules théorique et parmi les molécules présentes dans l'huile, lesquelles sont détectées en phase aqueuse. L'échantillon étant très complexe (Figure IV-28), une liste de molécule suspecte était nécessaire au traitement des données.

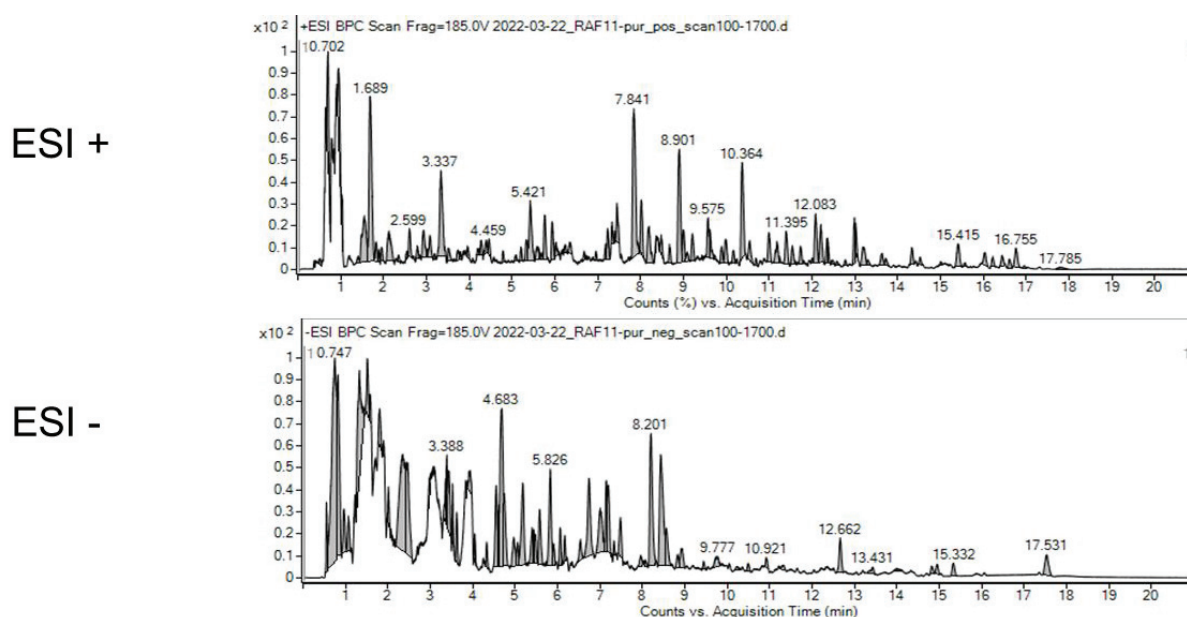


Figure IV-28 : BPC (Base Peak Chromatogram) en ionisation positive et négative de bio-huile issue de l'essai en continu RAF 11 réalisé à 300 °C et pendant 15 min

Un échantillon de phase aqueuse obtenue après un essai continu sur *C. sorokiniana* a été analysé. Les données étant similaires entre les échantillons issus des réacteurs batch et continu, nous avons supposé que les composés cités dans le Tableau IV-3 sont identiques à ceux de l'essai continu. La liste en annexe 2-F, complétée par les molécules détectées dans la bio-huile (Tableau IV-1) a été utilisée afin de valider ou non la présence des molécules dans les échantillons. Trois niveaux de certitude ont été définis suite au traitement des données.

Les molécules considérées comme « validées » sont les suivantes : indolizine, 2-méthyl ou 1H-indole, 3-méthyl ; 3,6-diéthyl-pipérazine-2,5-dione ; 3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione ; benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione ; acide 2-propenoïque, 2-phényléthyl ester ; acide cinnamique. Leur chromatogramme est représenté en Figure IV-29. Pour les dicétopipérazines (a, b et c), le nombre de pics est directement relié au nombre d'isomères de

ces molécules. Leur configuration cyclique suppose 4 isotopes selon la chiralité des deux groupements autres que carboxyle. Les chromatogrammes reliés aux deux acides (e et f dans la Figure IV-29) mettent en évidence le fait qu'il existe des isomères de ces deux molécules, mais ils n'ont pas été identifiés.

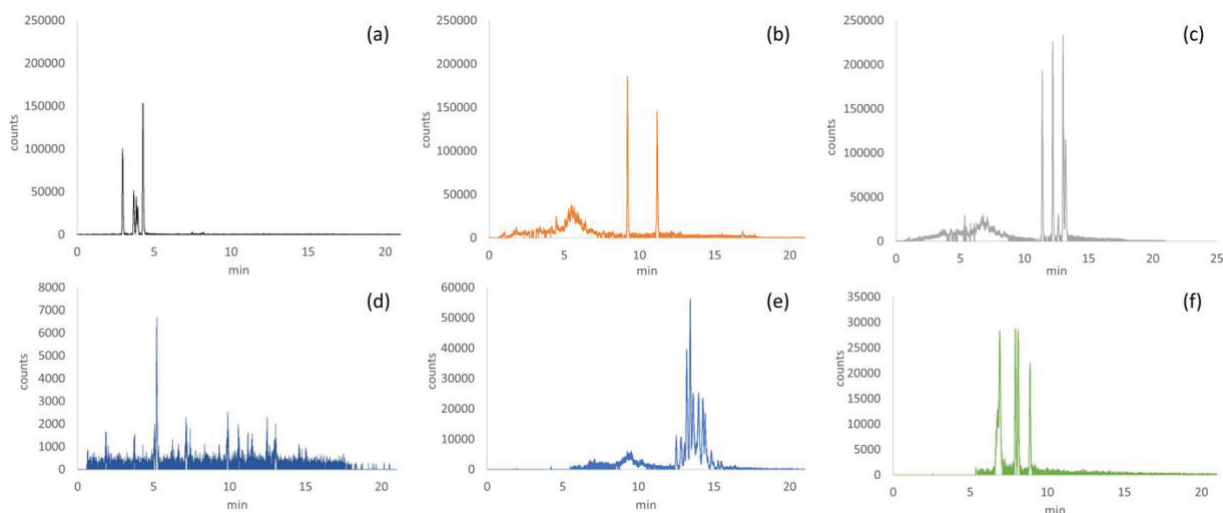


Figure IV-29 : Chromatogramme LC-QToF de (a) : 3,6 diéthyl-pipérazine-2,5-dione ; (b) : 3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione ; (c) : 3-benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione; (d) : 1H-indole, 3-méthyl; (e) : acide 2-propenoïque, 2-phényléthyl ester, (f) : acide cinnamique

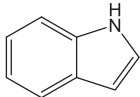
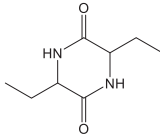
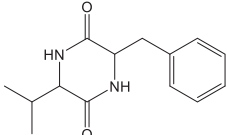
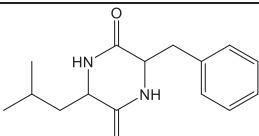
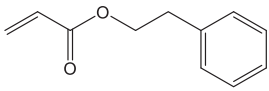
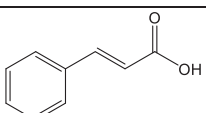
Celles où la présence de molécule est probable sont les suivantes : quinoline,4,8-diméthyl ; diisoamylamine ; (3S,6S)-3-butyl-6-méthyl-2,5-pipérazinedione ; 3,6-bis(2-méthylpropyl)-2,5-pipérazinedione ; 3,6-diisopropylpipérazine-2,5-dione ; acide succinique ; pyrazine,2-éthyl-5-méthyl ; acide 6-amino-hex-2-énoïque ; 2-furanecarboxaldéhyde,5-méthyl ; 2-cyclopenten-1-one,2-hydroxy-3-méthyl ou 1,2-cyclopentanedione,3-méthyl ; 3-acétyl-1-méthylpyrrole ; N-[2-hydroxyéthyl]succinimide ; acide lévulinique ; pyrazine, 2-éthyl-5-méthyl ; 5-HMF ou benzèneetriol ; acide 6-aminohexen-2-oïque ; acide glutarique ; acide 3-phénylpropanoïque ; acide 2-hydroxy-3-phénylpropanoïque.

Celles où un signal a été détecté mais la présence de la molécule est peu probable : styrène ; 1H-pyrrole-2-carboxaldéhyde, 1-méthyl ; caprolactame ; acide 6-aminohexanoïque ; dicétopipérazine ; acide 4-méthylpentanoïque, acide N-méthyl-glycérique ; phénylacétylaldéhyde, phényléthylamine, phényl éthanol ou phénol, 4-éthyl ou phénol,3,4-diméthyl ; 3-acétyl-1-méthylpyrrole ; 2-cyclopenten-1-one,3,5,5-triméthyl ; acide pyroglutamique ; acide glutaconique ; acide 3-hydroxy-4-méthylpentanoïque ; acide malique ; acide hydroxyglutarique ; N-(2-carboxyéthyl) β -alanine ou N-(1-carboxyéthyl)alanine ; acide 4,4'-Bis(N,N-dibutyrique).

Dans les deux derniers cas, le passage d'un standard est nécessaire pour confirmer la présence des molécules. Toutes les autres molécules de la liste ne sont pas observées dans

la phase aqueuse. Notamment, les molécules issues de la dégradation de la chlorophylle, des lipides ou les alcools. Finalement, la LC-QToF a permis de prouver la présence des molécules représentée dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4 : Molécules validées en LC-QTOF

Molécules	Structure chimique
1H-indole ou indolizine, 2-méthyl	
3,6-diéthyl-pipérazine-2,5-dione	
3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione	
benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione	
Acide 2-propenoïque, 2-phényléthyl ester	
Acide cinnamique	

Les composés identifiés seulement en GC-MS sont à confirmer par une autre analyse. Les familles détectées sont probables mais la structure exacte des molécules n'est pas vérifiée. Cependant, l'analyse GC-MS de Chen et al. [23] valide l'identification de la pyridine ; de l'acide acétique, 4-méthyl-pentanoïque, benzènepropanoïque ; du 2,3-diméthyl-2-cyclopentèn-1-one ; du N-méthyl-acétamide et de l'acétamide ; de la 1-méthyl-2-pyrrolidinone et la 2-pyrrolidinone ; du phénol et 3-méthyl-phénol ; de la 2-pipéridinone ; du caprolactame ; du glycérol ; du 6-méthyl-3-pyridinol et du 3-pyridinol et de l'indole.

Modification du schéma réactionnel :

Le schéma réactionnel présenté ci-dessous ne prend en compte que les molécules détectées par GC-MS avec la colonne Stabilwax et celles confirmée par LC-MS(QTOF).

2.1.3. Compléments : analyse de la fraction lourde de la bio-huile

Comme évoqué précédemment, seule la fraction légère de l'huile a été analysée lors des analyses par chromatographie en phase gazeuse. Une huile issue de la liquéfaction de *C. sorokiniana* en continu (RAF 11) a donc été analysée par spectrométrie de masse à résonance cyclonique ionique (FT-ICR MS) afin d'avoir des détails sur la structure chimique des molécules à haut poids moléculaire. Ces molécules sont visibles en GPC-SEC sur la Figure IV-19, c'est la fraction lourde de la bio-huile. Elle se forme principalement par condensation des molécules hétérocycliques issues des réactions de Maillard ou de dégradation des carbohydrates.

Les distributions des classes de composés contenant de l'azote en détection ESI+ et ESI- sont présentées sur les Figure IV-31 et Figure IV-32. On observe, comme attendu dans le cas des algues, une prédominance des composés basiques et plus particulièrement de la famille N_2O_y [29,30].

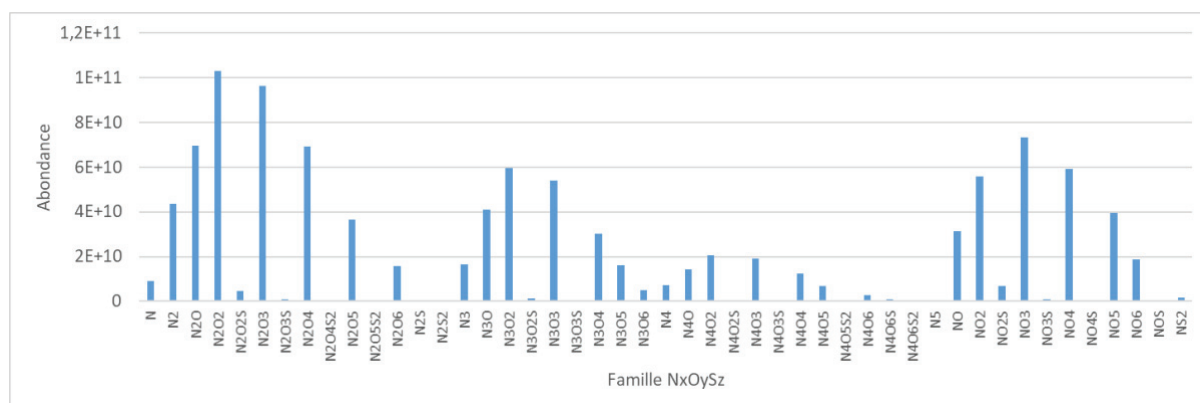


Figure IV-31 : Abondance des classes de composés azotés $N_xO_yS_z$ détectées en mode ESI(+) sur une bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS

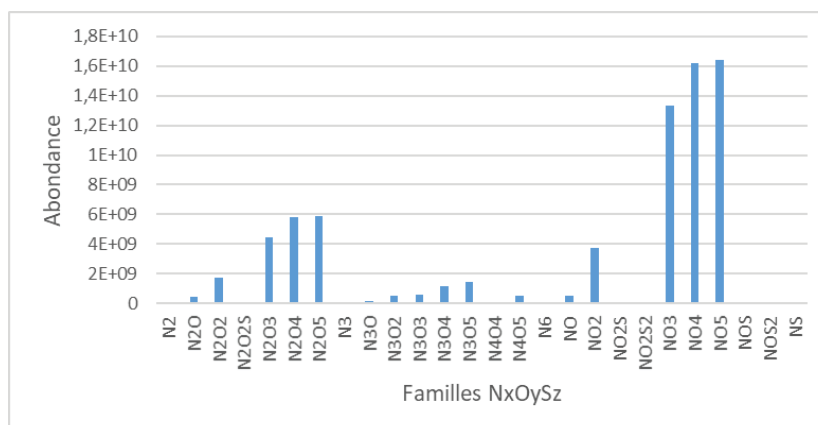
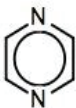
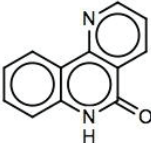

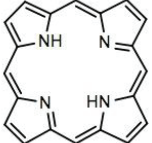


Figure IV-32 : Abondance des classes de composés azotés détectées en mode ESI(-) sur une bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS

Le paramètre DBE (*Double Bond Equivalent*), indicateur du degré d'aromaticité et du nombre de cycles aromatiques, permet de visualiser la complexité des mélanges analysés. Le Tableau IV-5 illustre différentes classes de composés et leur DBE associée. La représentation de la DBE en fonction du nombre de carbone dans la molécule permet de voir la distribution de familles de composés plus ou moins alkylés (ligne horizontale) et plus ou moins condensés (ligne verticale).

Tableau IV-5 : Exemple de composés azotés et leur DBE associée

Classe	N2	N2O	N	N4
Structure chimique				
DBE	4	10	15	16

La complexité de la composition en molécules azotées de *C. sorokiniana* est illustrée par la Figure IV-33 présentant l'évolution du paramètre DBE avec le rapport H/C pour l'ionisation ESI (+). La sensibilité extrême de la technique (détection au ppb) montre une multitude de molécules contenant un ou plusieurs atomes d'azote dans un domaine H/C < 2 et des DBE pouvant atteindre 30. Cela prouve la présence de composés aromatiques à haut poids moléculaire

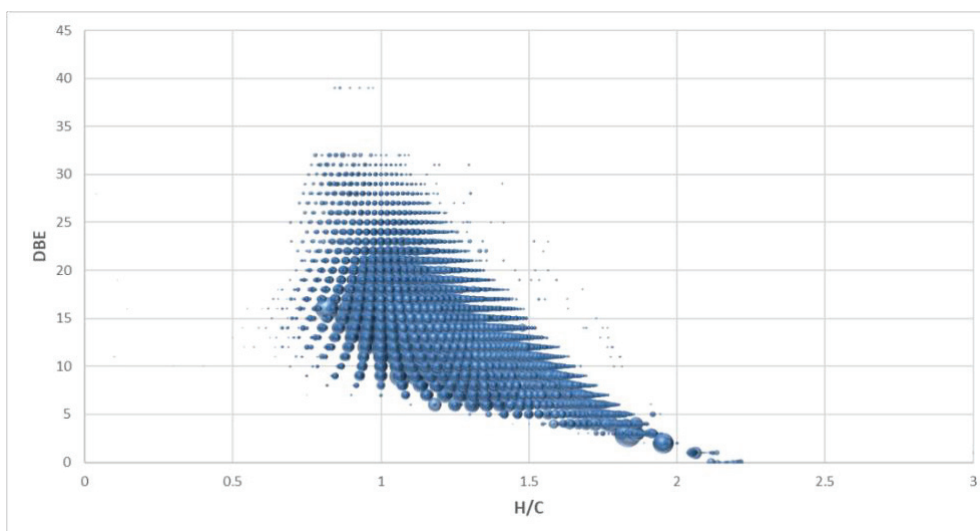


Figure IV-33 : Distribution du DBE en fonction du rapport atomique H/C pour toutes les familles de molécules azotées de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (ESI (+))

Les familles N_2O_x et NO_x en ESI (-) et les familles N_x en ESI (+) ont particulièrement été étudiées. Elles correspondent à des composés azotés acides ou neutres et à des composés basiques, respectivement. Les composés azotés basiques sont plus importants et ont une

distribution dense et relativement homogène comparé aux composés neutres ou acides (voir annexe 4). Pour ces derniers on distingue pour les familles N_xO_y , avec y supérieur ou égal à 3, une double distribution des espèces. De plus, le nombre d'azote et d'oxygène ne varie pas dans les deux distributions, alors que le DBE peut atteindre 30. Ce qui signifie que les cycles aromatiques ne se forment pas seulement par condensation des hétérocycles entre eux mais aussi par condensation de chaînes carbonées. On observe un intervalle d'environ 15 carbones entre les deux distributions, ce qui laisse penser que les chaînes carbonées additionnées aux hétérocycles sont des alcanes ou alcènes issus de la décarboxylation des acides gras.

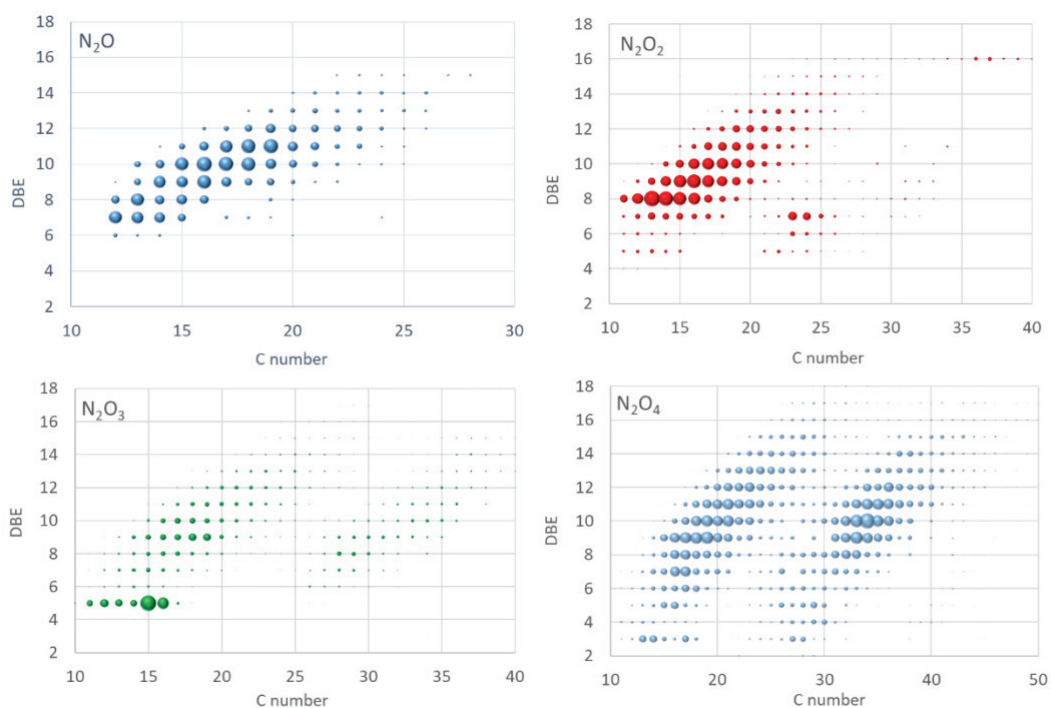


Figure IV-34 : Évolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_2O_x (x : 1 à 4) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (-))

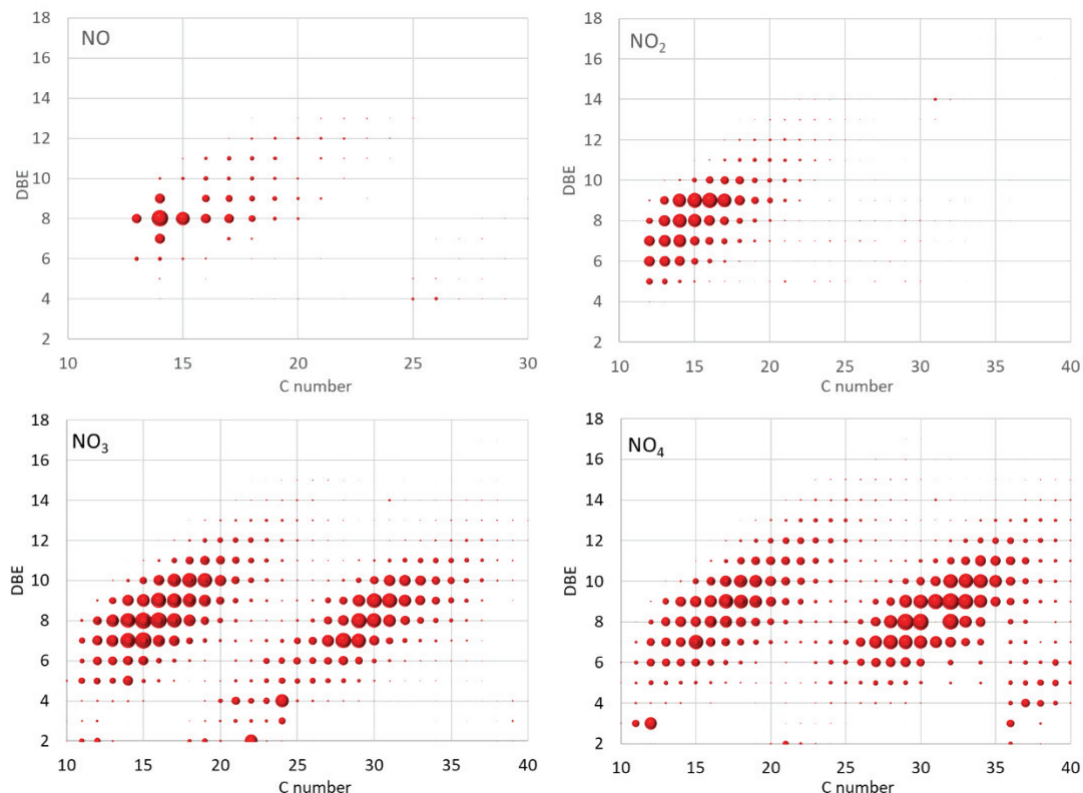


Figure IV-35 : Évolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés NO_x ($x : 1 \text{ à } 4$) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à 300 °C pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (-))

En mode positif, de nombreux composés de formule N_xO_y sont détectés. Les N_1O_1 correspondent par exemple aux amides issus de la réaction des acides gras avec les protéines et les N_2O_2 aux dérivés de dicétopipérazines. L'évolution du DBE des composés basiques, N, N_2 et N_4 en fonction du nombre de carbones est représenté en Figure IV-36. On distingue dans ce mode d'ionisation une contribution N_4 particulièrement accentué pour une DBE de 16, caractéristique du cycle tétrapyrrole des chlorophylles. Les molécules basiques ne contenant qu'un azote (N) pourraient être assimilées au pyridines et quinolines et les N_2 aux imidazoles et pyrazines [31].

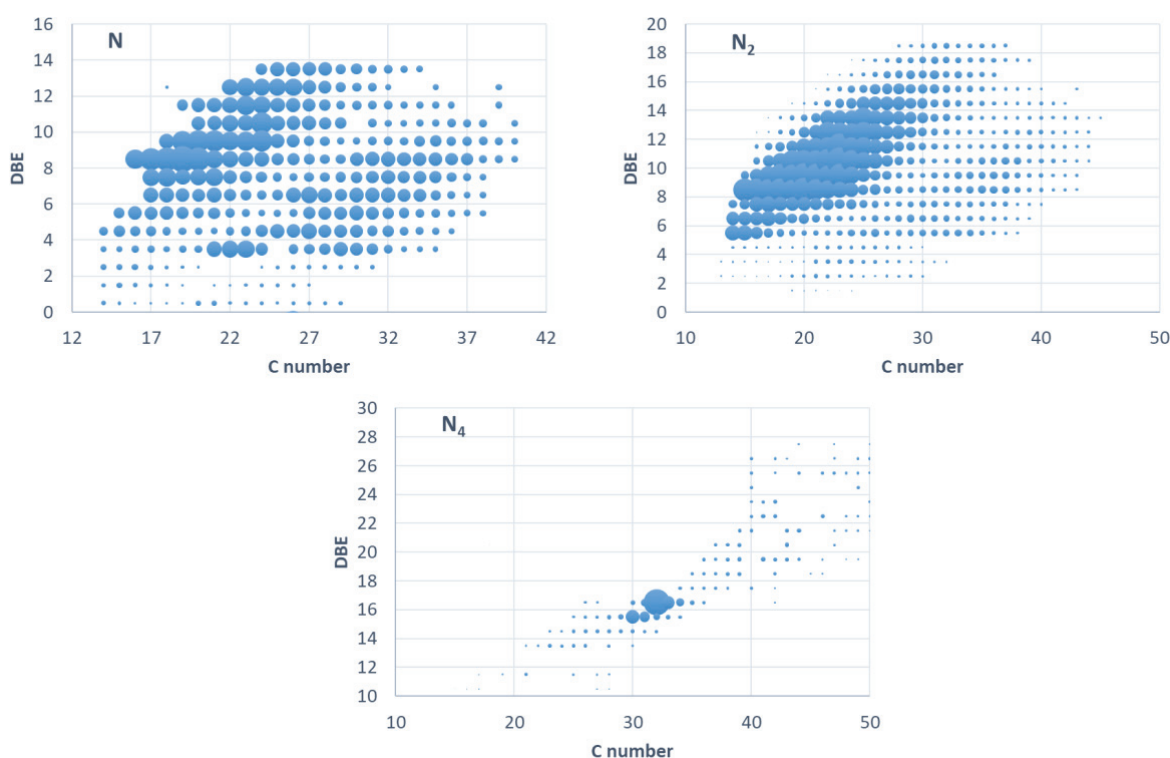


Figure IV-36 : Évolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_x ($x : 1$ et 2 et 4) de l'huile HTL de *C. sorokiniana* (mode ESI (+))

En conclusion, l'analyse par FTICR-MS permet de mettre en évidence un grand nombre de molécules azotées de composition et d'aromaticité très variées non visible par GC. En effet, la chromatographie en phase gazeuse élue difficilement des composés de DBE supérieure à 10. La majorité des composés sont des composés basiques issues de classes N_xO_y mais on remarque aussi la présence de composés acides ou neutres s'étant condensés avec des chaînes d'alcane linéaires.

2.2. Comparaison avec *C. vulgaris*

Le profil du glycérol en phase aqueuse n'a pas été réalisé pour *C. vulgaris*. Cependant, l'hydrolyse des lipides a tout de même été illustrée en Figure IV-37. Les profils des méthylesters et de l'heptadécane nous indiquent que les réactions d'estérification et de décarboxylation ont lieu suite au relâchement d'acides carboxyliques. On remarque que l'heptadécane est formé à partir de 200 °C alors que les acides carboxyliques à 250 °C, cependant dans le cas de *C. sorokiniana*, l'hydrolyse commençait à 200 °C, une autre mesure serait nécessaire pour confirmer ce point. Au bout de 10 min à 350 °C, la formation d'acides carboxyliques diminue, ce qui entraîne une diminution des méthylesters, on peut supposer que

ces molécules condensent pour former des cycles aromatiques à haut poids moléculaire puis quand la phase solide ou fraction lourde est saturée les acides carboxyliques s'accumulent à nouveau et on observe une augmentation de la production d'amides, qui avaient jusqu'ici atteint un palier.

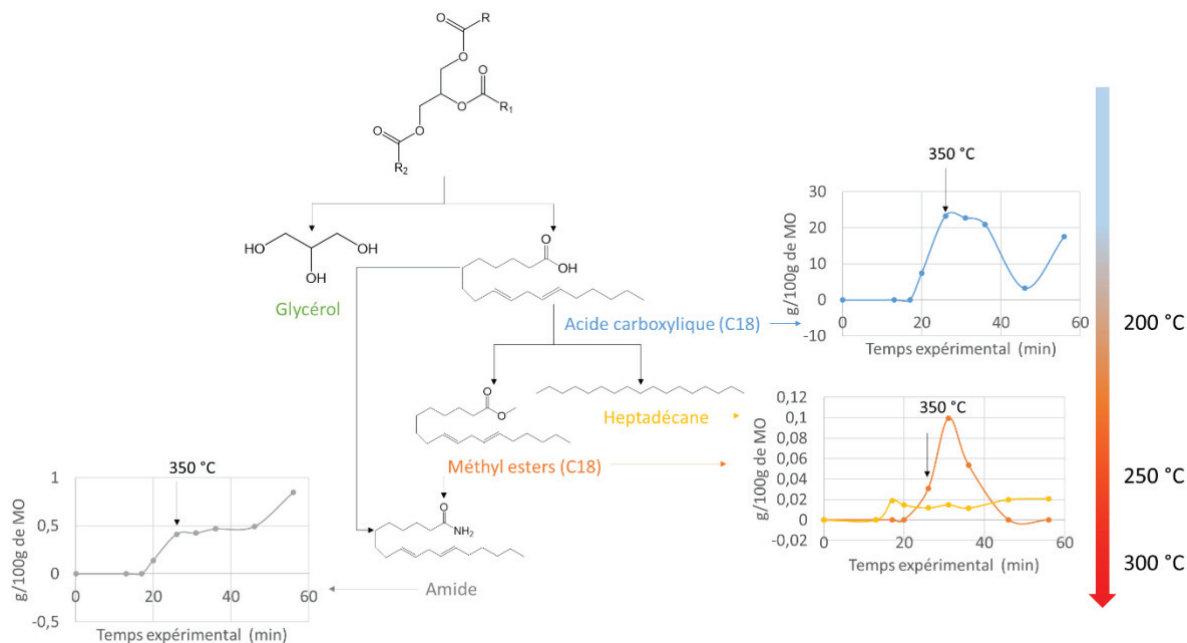


Figure IV-37 : Hydrolyse des lipides avec le profil des acides carboxyliques (C18) (bleu), de l'heptadécane (jaune), des méthyl esters (orange) et des amides (gris) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2021RAFV2

Le profil de dégradation de la chlorophylle a également été représenté en Figure IV-38. Tout comme dans le cas de *C. sorokiniana*, l'hydrolyse des phytols a lieu à partir de 200 °C mais la croissance n'est pas constante pour les deux espèces. Le pic de phytol formé à 300 °C semble se transformer en partie en phytène à 350 °C et 20 min. Cela confirme le chemin réactionnel de la chlorophylle proposé en Figure IV-14. On observe ensuite le même comportement que pour les acides carboxyliques à 350 °C au bout de 20 min. On suppose que les phytènes condensent et que la fraction lourde ou solide sature, ce qui implique à nouveau une formation de phytols dans l'huile.

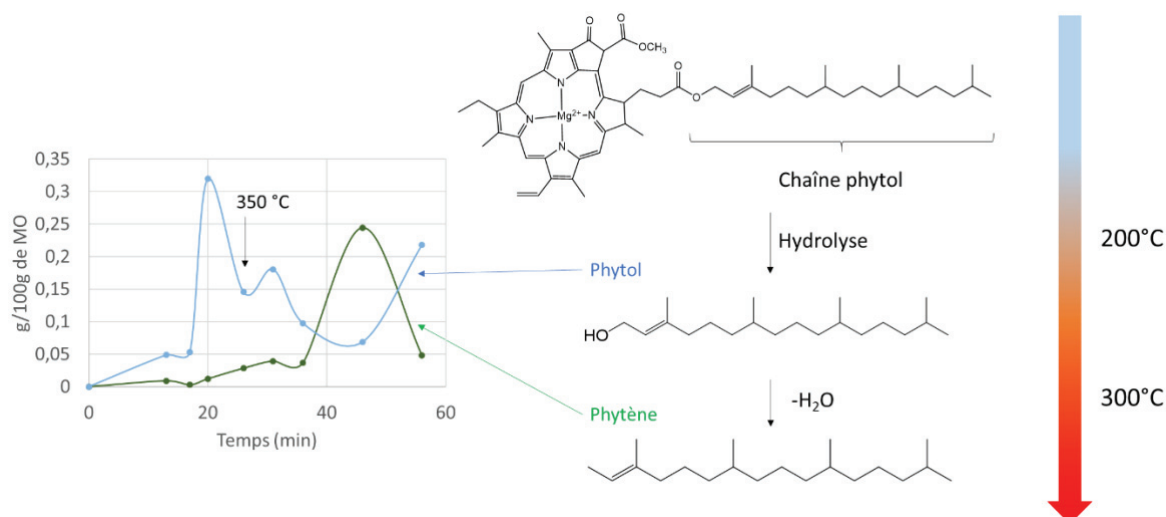


Figure IV-38 : Hydrolyse de la chlorophylle avec le profil du phytol (bleu) et du phytène (vert) lors d'une HTL à 350 °C (indication quand le palier est atteint) avec 2021RAFCV2

Finalement la principale différence observée avec *C. sorokiniana* est l'apparition de réactions de condensations. Or, la seule différence en termes de composition de l'algue est au niveau du taux de lipides. On peut donc supposer que les acides carboxyliques favorisent la production de composés lourds. La proportion en char étant minimale à ces températures, les molécules formées sont probablement des alcanes à chaîne longue présents dans la fraction lourde de l'huile.

2.3. Conclusion : schéma réactionnel

L'analyse de la bio-huile et de la phase aqueuse a permis de faire un lien avec la biomasse de départ. Un schéma réactionnel adapté à *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* discriminant les molécules caractéristiques des phases aqueuse et organiques et leur origine est donc proposé en Figure IV-39.

Si on s'intéresse tout d'abord aux molécules présentes dans l'huile, on voit que les phytènes et phytols issus de la dégradation de la chlorophylle ont été identifiés dans les deux analyses (GC-MS et GC*GC-MS) comme l'avaient observé Torri et al. par Py-GC-MS [22]. Aucune étude n'a rapporté la dégradation des porphyrines dans les conditions d'HTL mais les unités de pyrroles détectées pourraient venir de la dégradation de ces cycles [27]. La 1H-pyrrole,2-éthyl-3,4,5-triméthyl observée en GC-MS et GC*GC-MS pourrait avoir un lien direct avec la molécule de chlorophylle (Figure IV-40) composée de quatre noyaux pyrroles. Cependant, la stabilité de cette molécule liée à un métal dans le cas de la chlorophylle, ne favorise pas sa dégradation à haute température [32]. L'étude FTICR-MS menée ici ou par Jarvis et al. ont montré la présence de cycles tétrapyrroles dans les bio-huiles après l'HTL d'algues [32]. Comme évoqué dans Chapitre I4.5.1, les réactions de Maillard peuvent également mener à la formation de pyrroles.

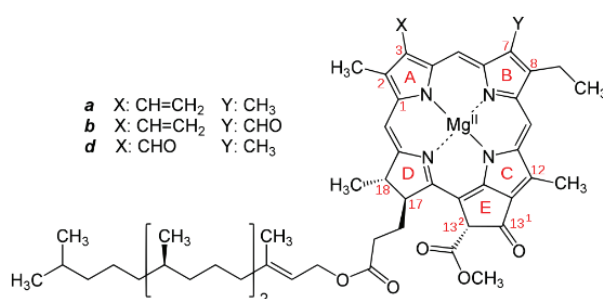


Figure IV-40 : Structure de la chlorophylle

Des acides gras issus de la dégradation des triglycérides ont également été observés. D'autres études ont validé la présence d'acides gras non décarboxylés lors de l'HTL [22]. Cependant, la présence d'heptadécane montre que des réactions de décarboxylation de l'acide linoléique (C18) ont bien eu lieu, mais le pentadécane correspondant à la décarboxylation de l'acide palmitique n'a pas été identifié. On peut donc penser que la longueur de la chaîne carbonée influe sur la cinétique de cette réaction. Plus la chaîne est longue, plus la liaison C-C reliée à la fonction carboxyle est affaiblie et la réaction de décarboxylation facilitée. Des esters d'acides gras à 16 et 18 carbones confirment la présence d'éthanol et de méthanol dans le milieu. Selon le tableau en annexe 2-F, un des produits de dégradation de la sérine, l'alanine et l'acide aspartique est l'éthanol.

La présence de styrène confirme les deux étapes de dégradation des acides aminés, la décarboxylation et la désamination. Seul le styrène a été détecté dans la famille des alcènes⁽³⁾, le cycle aromatique favorise la présence de cette molécule dans l'huile [22]. On peut supposer que d'autres molécules de cette famille (alcène⁽³⁾), issus d'acides aminés plus polaires, se retrouvent en phase aqueuse.

Les cycles aromatiques, tels que le xylène, le toluène ou les naphthalènes peuvent indiquer la présence de structure aromatique dans les « algaenan », biopolymères présent dans la paroi cellulaire des micro-algues vertes [27]. Mais le toluène peut également être relié à la présence de phénylalanine dans la biomasse [33].

Des molécules cycliques oxygénées issues de la dégradation des carbohydrates ont aussi été détectées, le 2,5-furandicarboxaldéhyde et le 2-furancarboxaldéhyde, 5-méthyl sont identifiés comme étant des produits dérivés du 5-hydroxyméthylfurfural, le principal produit de dégradation du glucose.

Comme évoqué dans l'état de l'art, les molécules hétérocycliques (pyrazines, indoles, indènes, quinolines) confirment la présence de réactions de Maillard mais selon l'étude de Chiavari et al., les indoles peuvent aussi être dues à la présence de tryptophane [33]. D'autres études confirment la présence de ces molécules dans l'huile [28].

Parmi les molécules présentes seulement en phase aqueuse, on trouve le glycérol, issu de l'hydrolyse des triglycérides mais aussi, le 2-pyrrolidone, caractéristique de la dégradation des acides aminés acides et d'autres pyrrolidones pouvant être reliées à la dégradation des DKP [27]. Le butyrolactone, caractéristique de la présence d'acide glutamique, les pipéridines, qui peuvent venir de la dégradation de la lysine ou des mélanoïdines [14,27] et pour finir, de nombreux acides à chaîne courte, tel que l'acide propanoïque, produit de dégradation des acides aminés.

On trouve ensuite des molécules présentes à la fois en phase aqueuse et dans l'huile comme le caprolactame, directement relié à la présence de lysine. Mais aussi les cyclopentènes et cyclopentenones issues de la dégradation des polysaccharides et couramment observées dans les bio-huiles [28]. Le 2-cyclopenten-1-one,2-méthyl détecté en GC-MS et GC*GC-MS a également été observé par Torri et al [27].

Les dérivés phénoliques, ont également été observés dans les deux phases. Ils sont issus de la décomposition des carbohydrates mais aussi de la dégradation de la tyrosine [33]. L'acide 2-propenoïque,2-phényléthyl ester pourrait être issu de la réaction entre l'acide acrylique présent théoriquement dans le milieu et les produits de décomposition de la phénylalanine comme le phényl-2-éthanol (non majoritaire). Pour finir, on retrouve également l'acide cinnamique issu de la dégradation de la phénylalanine.

Une autre famille de molécules azotées présente dans l'huile et dans la phase aqueuse est la famille des dicétopipérazines (DKP). Leur formation est bien référencée dans la littérature, les groupements latéraux permettent de remonter aux acides aminés impliqués dans cette réaction. Certaines ont été détectées seulement dans l'huile comme la 3,6-

diisopropyl-pipérazine-2,5-dione venant de la dimérisation de la valine et la 3,6-bis(2-méthylpropyl)-pipérazine-2,5-dione de la leucine. Des suppositions ont été faite quant à la formation de la (3S,6S)-3-butyl-6-méthyl-pipérazine-2,5-dione et de la 3-hydroxyméthyl-pipérazine-2,5-dione, ces molécules pourraient provenir de la réaction entre l'alanine et la lysine et la sérine et la glycine respectivement, bien que ce ne soit pas des acides aminés aliphatiques.

Certaines DKP ont été détectées seulement en phase aqueuse, comme la 3,6-diéthyl-pipérazine-2,5-dione issue de la dimérisation des produits de décarboxylation de l'acide glutamique et d'autres plus complexes comme la pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-méthylpropyl)- qui pourrait venir de la réaction entre l'arginine et la phénylalanine, en supposant que l'arginine se cyclise par la présence d'un groupe partant sur sa chaîne latérale.

D'autres sont présentes dans les deux phases comme la 3-benzyl-6-isopropyl-pipérazine-2,5-dione issue de la réaction entre la valine et la phénylalanine et la benzyl-6-isobutyl-pipérazine-2,5-dione venant de la leucine et de la phénylalanine.

La composition de *C. vulgaris* n'entraîne pas de modification du schéma réactionnel mais la cinétique des différentes réactions sera différente. Le fort taux de lipides implique une réactivité différente à haute température pour l'hydrolyse des lipides et de la chlorophylle.

3. Conclusion finale

Un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* a été proposé grâce à l'analyse de la composition de la biomasse et à une étude bibliographique détaillée sur la dégradation des acides aminés. Ensuite, l'analyse de la fraction légère de la bio-huile et de la phase aqueuse a permis d'adapter ce schéma réactionnel à ces deux phases spécifiquement. Puis des suppositions ont été faites quant à la fraction lourde de la bio-huile grâce aux analyses par FT-ICR-MS. Ce qui permet finalement d'avoir une vision d'ensemble sur la décomposition de ces deux espèces de micro-algues en conditions de liquéfaction hydrothermale et sur la répartition des produits dans les différentes phases. Le schéma réactionnel proposé intègre les différentes familles d'acides aminés et la nature des triglycérides, ce qui, jusqu'à maintenant, n'a pas été pris en compte pour illustrer la dégradation des micro-algues en conditions d'HTL. Le chapitre suivant applique ce schéma réactionnel à une modélisation cinétique afin de prévoir le rendement en bio-huile, phase aqueuse et char.

Références

- [1] J.D. Sheehan, P.E. Savage, Molecular and Lumped Products from Hydrothermal Liquefaction of Bovine Serum Albumin, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5 (2017) 10967–10975. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02854>.
- [2] S.M. Changi, J.L. Faeth, N. Mo, P.E. Savage, Hydrothermal Reactions of Biomolecules Relevant for Microalgae Liquefaction, *Ind. Eng. Chem. Res.* 54 (2015) 11733–11758. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b02771>.
- [3] W. Abdelmoez, H. Yoshida, T. Nakahasi, Pathways of Amino Acid Transformation and Decomposition in Saturated Subcritical Water Conditions, *International Journal of Chemical Reactor Engineering*. 8 (2010). <https://doi.org/10.2202/1542-6580.1903>.
- [4] A. Matayeva, D. Bianchi, S. Chiaberge, F. Cavani, F. Basile, Elucidation of reaction pathways of nitrogenous species by hydrothermal liquefaction process of model compounds, *Fuel*. 240 (2019) 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.11.136>.
- [5] J.S. Cox, T.M. Seward, The reaction kinetics of alanine and glycine under hydrothermal conditions, *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71 (2007) 2264–2284. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2007.01.020>.
- [6] Y. Qiu, A. Aierzhati, J. Cheng, H. Guo, W. Yang, Y. Zhang, Biocrude Oil Production through the Maillard Reaction between Leucine and Glucose during Hydrothermal Liquefaction, *Energy and Fuels*. 33 (2019) 8758–8765. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b01875>.
- [7] M. Déniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Hydrothermal liquefaction of blackcurrant pomace and model molecules: understanding of reaction mechanisms, *Sustainable Energy Fuels*. 1 (2017) 555–582. <https://doi.org/10.1039/C6SE00065G>.
- [8] M. Deniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Energy valorisation of food processing residues and model compounds by hydrothermal liquefaction, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 54 (2016) 1632–1652. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.017>.
- [9] Y.-P. Chen, Y.-Q. Huang, J.-J. Xie, X.-L. Yin, C.-Z. Wu, Hydrothermal reaction of phenylalanine as a model compound of algal protein, *Ranliao Huaxue Xuebao/Journal of Fuel Chemistry and Technology*. 42 (2014) 61–67. [https://doi.org/10.1016/s1872-5813\(14\)60010-4](https://doi.org/10.1016/s1872-5813(14)60010-4).
- [10] S. Changi, M. Zhu, P.E. Savage, Hydrothermal Reaction Kinetics and Pathways of Phenylalanine Alone and in Binary Mixtures, *ChemSusChem*. 5 (2012) 1743–1757. <https://doi.org/10.1002/cssc.201200146>.
- [11] B.K. Mehta, K. Kumamoto, K. Yanagisawa, H. Kotsuki, A novel aromatic alkylation of anilines with cyclic and acyclic ketones under hydrothermal conditions, *Tetrahedron Letters*. 46 (2005) 6953–6956. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.07.165>.
- [12] J. Lee, D. Choi, E.E. Kwon, Y.S. Ok, Functional modification of hydrothermal liquefaction products of microalgal biomass using CO₂, *Energy*. 137 (2017) 412–418. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.03.077>.
- [13] W. Abdelmoez, T. Nakahasi, H. Yoshida, Amino Acid Transformation and Decomposition in Saturated Subcritical Water Conditions, *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007) 5286–5294. <https://doi.org/10.1021/ie070151b>.
- [14] Y. Fan, U. Hornung, K. Raffelt, N. Dahmen, The influence of lipids on the fate of nitrogen during hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 147 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104798>.
- [15] Y. Fan, U. Hornung, N. Dahmen, A. Kruse, Hydrothermal liquefaction of protein-containing biomass: study of model compounds for Maillard reactions, *Biomass Conv. Bioref.* 8 (2018) 909–923. <https://doi.org/10.1007/s13399-018-0340-8>.

- [16] F.A. Carey, R.J. Sundberg, Polar Addition and Elimination Reactions, in: F.A. Carey, R.J. Sundberg (Eds.), *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*, Springer US, Boston, MA, 2007: pp. 473–577. https://doi.org/10.1007/978-0-387-44899-2_5.
- [17] F.A. Carey, R.J. Sundberg, Addition, Condensation and Substitution Reactions of Carbonyl Compounds, in: F.A. Carey, R.J. Sundberg (Eds.), *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*, Springer US, Boston, MA, 2007: pp. 629–711. https://doi.org/10.1007/978-0-387-44899-2_7.
- [18] S.S. Toor, L. Rosendahl, A. Rudolf, Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies, *Energy*. 36 (2011) 2328–2342. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2011.03.013>.
- [19] T. Powell, S. Bowra, H. Cooper, Subcritical Water Hydrolysis of Peptides: Amino Acid Side-Chain Modifications, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 28 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13361-017-1676-1>.
- [20] R.H. Garrett, C.M. Grisham, B. Lubochinsky, *Biochimie*, Paris, France, Belgique, 2000.
- [21] Fernando Pagels, Daniel Salvaterra, Helena Mela Amaro, Ana Catarina Guedes, Pigments from microalgae, in: *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*, 2020: pp. 465–492. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012818536000018X?via%3DiHub>.
- [22] C. Torri, D.L. Barreiro, R. Conti, D. Fabbri, W. Brillman, Fast Procedure for the Analysis of Hydrothermal Liquefaction Biocrude with Stepwise Py-GC-MS and Data Interpretation Assisted by Means of Non-negative Matrix Factorization, *Energy Fuels*. 30 (2016) 1135–1144. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b02688>.
- [23] Y. Chen, N. Zhao, Y. Wu, K. Wu, X. Wu, J. Liu, M. Yang, Distributions of organic compounds to the products from hydrothermal liquefaction of microalgae, *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 36 (2017) 259–268. <https://doi.org/10.1002/ep.12490>.
- [24] S. Changi, T.M. Brown, P.E. Savage, Reaction kinetics and pathways for phytol in high-temperature water, *Chemical Engineering Journal*. 189–190 (2012) 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.02.021>.
- [25] L. Leng, W. Zhang, H. Peng, H. Li, S. Jiang, H. Huang, Nitrogen in bio-oil produced from hydrothermal liquefaction of biomass: A review, *Chemical Engineering Journal*. 401 (2020) 126030. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126030>.
- [26] Y. Guo, T. Yeh, W. Song, D. Xu, S. Wang, A review of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 48 (2015) 776–790. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.049>.
- [27] C. Torri, L. Alba, C. Samorì, D. Fabbri, W. Brillman, Hydrothermal Treatment (HTT) of Microalgae: Detailed Molecular Characterization of HTT Oil in View of HTT Mechanism Elucidation, *Energy & Fuels*. 26 (2012) 658–671. <https://doi.org/10.1021/ef201417e>.
- [28] S. Anouti, G. Haarlemmer, M. Déniel, A. Roubaud, Analysis of Physicochemical Properties of Bio-Oil from Hydrothermal Liquefaction of Blackcurrant Pomace, *Energy Fuels*. 30 (2016) 398–406. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b02264>.
- [29] C. Geantet, D. Laurenti, N. Guilhaume, C. Lorentz, I. Borghol, B. Bujoli, E. Chailleux, R. Checa, S. Schramm, V. Carré, F. Aubriet, C. Queffélec, FT-ICR MS characterization of bio-binders for road pavement from HTL of microalgae residues, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 10 (2022) 107361. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107361>.
- [30] M.S. Vlaskin, Y.I. Kostyukevich, G.N. Vladimirov, N.I. Chernova, S.V. Kiseleva, A.V. Grigorenko, E.N. Nikolaev, O.S. Popel, A.Z. Zhuk, Chemical Composition of Bio-oil Obtained via Hydrothermal Liquefaction of *Arthrospira platensis* Biomass, *High Temperature*. 56 (2018) 915–920. <https://doi.org/10.1134/S0018151X18060263>.
- [31] N. Sudasinghe, B. Dungan, P. Lammers, K. Albrecht, D. Elliott, R. Hallen, T. Schaub, High resolution FT-ICR mass spectral analysis of bio-oil and residual water soluble organics produced by hydrothermal liquefaction of the marine microalga

- Nannochloropsis salina, Fuel. 119 (2014) 47–56.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.11.019>.
- [32] J.M. Jarvis, N.M. Sudasinghe, K.O. Albrecht, A.J. Schmidt, R.T. Hallen, D.B. Anderson, J.M. Billing, T.M. Schaub, Impact of iron porphyrin complexes when hydroprocessing algal HTL biocrude, Fuel. 182 (2016) 411–418.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.05.107>.
- [33] G. Chiavari, G.C. Galletti, Pyrolysis—gas chromatography/mass spectrometry of amino acids, Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 24 (1992) 123–137.
[https://doi.org/10.1016/0165-2370\(92\)85024-F](https://doi.org/10.1016/0165-2370(92)85024-F).

Chapitre V : Modélisation cinétique

Ce chapitre permet de conclure l'approche réactionnelle abordée précédemment en se focalisant sur les avancées en termes de modélisation cinétique. Les outils de modélisation testés dans Chapitre III ne prennent pas en compte le schéma réactionnel de formation des molécules. Ils se basent, soit sur des corrélations mathématiques, soit sur une modélisation par apprentissage à l'aide d'un grand jeu de données. L'approche cinétique permet de prédire le rendement en bio-huile, phase aqueuse, char et gaz mais aussi de suivre l'évolution temporelle des composés intermédiaires et des produits finaux.

Le modèle présenté dans ce chapitre servira de base à la construction d'un futur modèle cinétique incluant le profil et la quantification de molécules cibles. Ici, seul le rendement massique en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz ont été considérés. Les constantes cinétiques associées aux voies réactionnelles ont donc été déterminées par le calcul et non par des valeurs expérimentales. Cette approche est nécessaire pour valider le schéma réactionnel associé au modèle cinétique.

Ce chapitre commence par présenter les données expérimentales associées à l'étude cinétique et leur application au modèle cinétique développé par Hietala et Savage [1], soit le plus récent et le plus détaillé actuellement dans la littérature. La suite de ce chapitre est dédiée à la présentation du schéma réactionnel utilisé dans le cadre du modèle cinétique, puis aux résultats obtenus pour la prédiction des rendements massiques des différents produits issus de l'HTL. Les profils des familles de molécules et les constantes de vitesse déterminées par le calcul seront également présentés pour discuter de la précision du modèle. Comme expliqué précédemment, le niveau de détail du modèle cinétique dans l'état actuel et les données collectées ne permettent pas la prédiction de la composition de la bio-huile et des composés réfractaires au raffinage, soit la formation des composés azotés. En effet, les profils de différentes espèces azotées et oxygénées ont été effectués mais, en raison des difficultés analytiques, seul 5 % des composés azotés ont pu être quantifiés dans la bio-huile, ce qui est trop faible pour pouvoir être utilisé dans l'optimisation d'un modèle cinétique. De plus, certains composés sont présents à la fois en phase aqueuse et dans la bio-huile, il aurait donc été nécessaire de quantifier ces composés dans les deux phases, ce qui n'a pas été possible. Cependant, les profils de ces molécules sont présentés à la fois pour *C. sorokiniana* et pour *C. vulgaris* en dernière partie de ce chapitre afin de pouvoir émettre des hypothèses sur les conditions à appliquer pour limiter leur formation.

1. Présentation des données expérimentales

Deux séries d'expériences ont été menées spécialement pour cette étude, une sur *C. sorokiniana* et une sur *C. vulgaris*. Les réactions de liquéfaction hydrothermales se sont déroulées dans le réacteur batch et à différentes températures (200, 250, 300 et 350 °C) et temps de séjour (5, 10, 20, 30 min). Les conditions d'essais appliquées à *C. sorokiniana* et à *C. vulgaris* sont représentées par des points sur la Figure V-1 et dans le Tableau II-11, ce qui représente au total 30 essais. Les réactions à basses températures ont permis de prendre en compte la rampe de température de 15 °C/min qui est habituellement inexistante dans le cas d'autres études cinétiques réalisées avec un micro-batch (voir Chapitre I5.2).

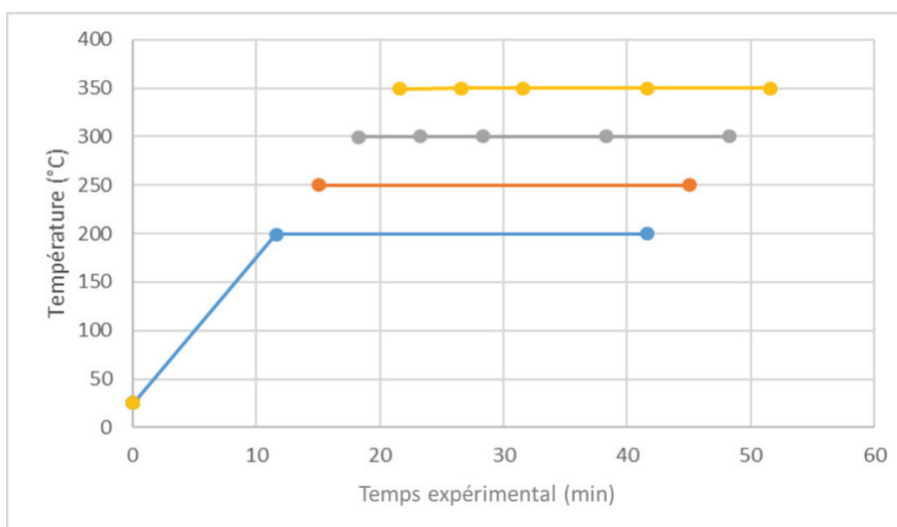


Figure V-1 : Essais réalisés dans le cadre de l'étude cinétique (plan d'expérience n°2)

Le suivi des rendements des différentes phases (bio-huile, char, phase aqueuse, gaz) a été fait pour chaque essai. Les données expérimentales associées à cette étude sont présentées en Figure V-2 pour *C. sorokiniana* et en Figure V-3 pour *C. vulgaris*. Tous les rendements sont calculés par rapport à la matière sèche introduite dans le réacteur et le rendement massique en phase aqueuse est déduit par différence par rapport au rendement des autres produits. Dans le cas de l'essai à 350 °C et 10 min pour *C. vulgaris*, la mesure de gaz n'a pas pu être effectuée et il ne restait pas assez de biomasse pour refaire cet essai, le rendement en phase aqueuse (calculé par différence) inclut donc le rendement en gaz. Les valeurs exactes sont données en annexe 5-D.

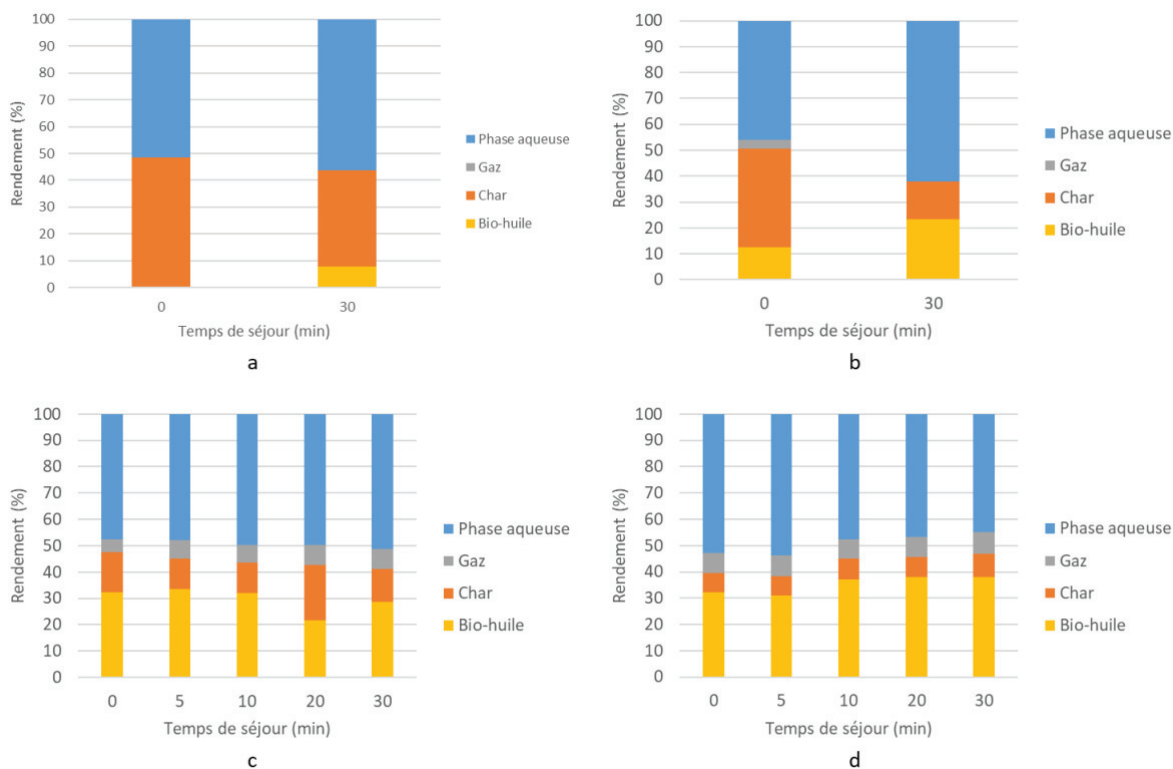


Figure V-2 : Données expérimentales des rendements en bio-huile, char, gaz et phase aqueuse obtenus après HTL de *C. sorokiniana* (2020RAFCS4) à **a** : 200 °C, **b** : 250 °C, **c** : 300 °C, **d** : 350 °C

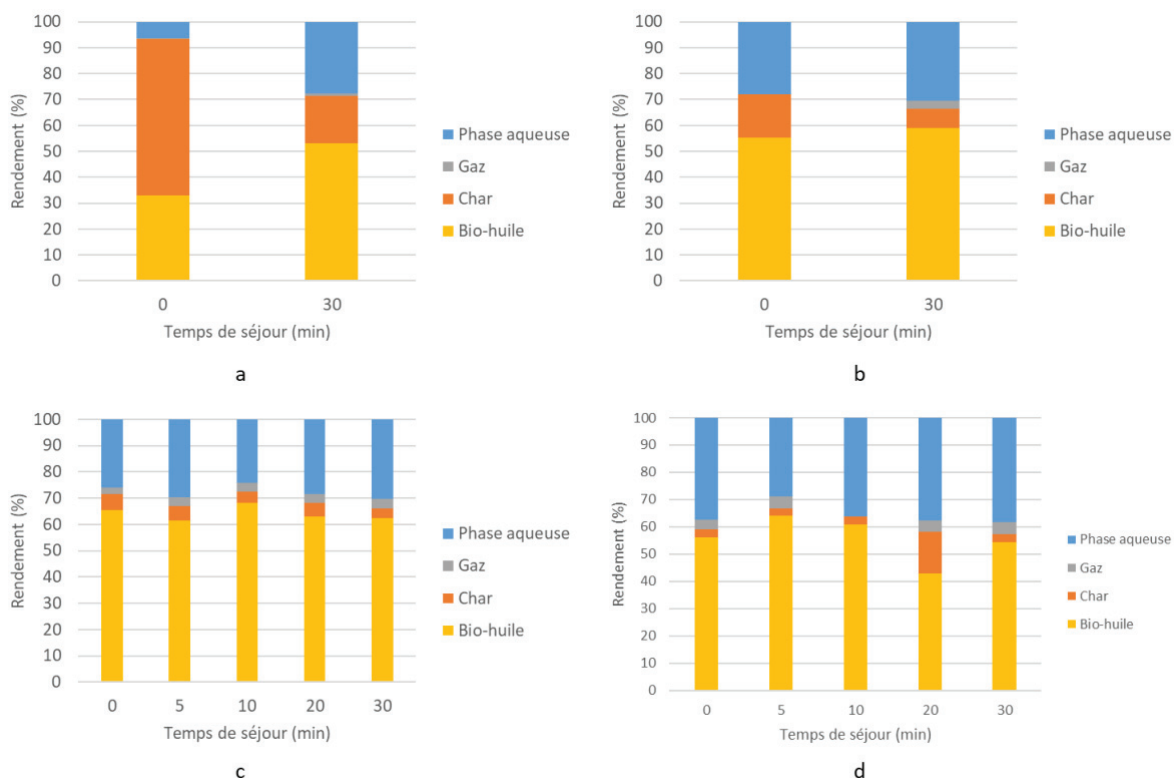


Figure V-3 : Données expérimentales des rendements en bio-huile, char, gaz et phase aqueuse obtenus après HTL de *C. vulgaris* (2021RAFCV2) à **a** : 200 °C, **b** : 250 °C, **c** : 300 °C, **d** : 350 °C

Comme évoqué dans le chapitre III, les meilleurs rendements après HTL de *C. sorokiniana* sont atteints à 350 °C, cependant ici, le temps de séjour court ne semble pas être le plus intéressant. En effet, dans le chapitre III, le comportement d'un lot de *C. sorokiniana* non carencée (2020RAFCS1) donc riche en protéines (42,6 %) a été décrit, alors qu'ici *C. sorokiniana* a été carencée (2020RAFCS4) et a deux fois moins de protéines (20,9 %), la réactivité en conditions d'HTL est donc différente. D'après le chapitre III, le rendement massique en bio-huile obtenu suite à l'HTL d'une biomasse riche en carbohydrates est peu influencé par la température et le temps de séjour. Cependant, quelle que soit la température, le rendement en bio-huile est bien plus élevé après HTL de *C. vulgaris* qu'avec *C. sorokiniana*, ce qui a été démontrée précédemment.

La composition des micro-algues (protéines, carbohydrates, lipides) renseignée dans le tableau de données a été normalisée sur la matière organique (sans les cendres) afin de boucler le bilan massique et de répartir la partie non analysée (voir Chapitre II.1.2.1) dans les différentes fractions. Cependant, cela implique que les données issues de la littérature ne pourront pas être testées sur ce modèle car la plupart des études considèrent les carbohydrates comme étant $100 - (\% \text{protéines} + \% \text{lipides} + \% \text{cendres})$.

Les données des autres essais réalisés en batch pendant la thèse ont également été utilisées afin d'augmenter la précision du modèle, ce qui rajoute 34 essais regroupés en Tableau II-9, Tableau II-10 et Tableau II-13. Les valeurs expérimentales correspondantes ont été présentées en Chapitre III et sont données en annexe 3-A mais les rendements des produits sont exprimés par rapport au taux de MO et non de MS. Finalement, le jeu de données utilisé pour le modèle cinétique contient tous les essais en réacteur batch, soit au total 64 essais qui ont été réalisés par le même opérateur sur la même installation et avec 5 lots de micro-algues différents. La majorité des essais ont été réalisés avec 2020RAFCS1, 2020RAFCS3, 2020RAFCS4 et 2021RAFCV2 et un essai a été fait avec 2021RAFCV1 nommé RAF 50 dans le Tableau II-13. La composition des lots normalisée est donnée en Tableau V-1.

Tableau V-1 : Composition biochimique des lots utilisés pour la modélisation cinétique normalisée sur la matière organique

Lot	Protéines (%)	Lipides (%)	Carbohydrates (%)
2020RAFCS1	44,9	24,5	23,3
2020RAFCS3	26,6	17	52,5
2020RAFCS4	22,8	30,8	43,8
2021RAFCV2	20,8	63,6	12,8
2021RAFCV1	14,6	45,7	36,3

2. Application des données au modèle de Hietala et Savage

Le modèle proposé par Hietala et Savage [1] et décrit dans le Chapitre I5.2 a été testé dans nos conditions. Contrairement aux autres modèles proposés dans la littérature [2–5], ils considèrent 16 voies réactionnelles et séparent, suite à l'hydrolyse des peptides, les acides aminés en deux catégories, ceux qui ont 1 et 2 atomes d'azote et de même pour les produits en phase aqueuse et dans le biocrude. La principale différence à noter entre leur protocole expérimental et celui appliqué dans le cadre des essais sur *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* est la taille du réacteur utilisée (~1,3 ml) et par conséquent, le temps de chauffe d'environ 1 min contre 20 min dans notre cas. En appliquant le modèle aux données des essais du plan d'expérience n°1 et n°2 (annexe 3-A et 5-D), on remarque que le modèle ne s'applique pas au lot 2020RAFCS4 (voir Figure V-4). Celui-ci se différencie des autres par le fait qu'il est en grande partie composé de carbohydrates mais aussi par le taux de lipides élevé (~30 %), on peut donc supposer des interactions entre les acides gras et les polysaccharides en conditions d'HTL, comme décrit dans la littérature [6–8] (voir Chapitre I4.5.3). Or, cette réaction n'est pas considérée ici, seule l'interaction entre protéines et carbohydrates est considérée par la réaction de Maillard.

Le schéma réactionnel proposé pour cette modélisation est également limité pour prédire le comportement des biomasses riches en lipides. En effet, ce modèle considère que les lipides se dégradent uniquement en acides gras après hydrolyse alors que, comme évoqué dans l'état de l'art et observé dans le chapitre IV, on note la production de glycérol en phase aqueuse, d'alcane suite aux décarboxylations et d'autres molécules issues de réactions intermoléculaires comme les amides ou esters. De plus, si on s'intéresse à la composition biochimique des micro-algues utilisées pour construire le modèle, on remarque que leur taux de lipides est de maximum 28,5 % alors que dans notre cas, le lot 2021RAFV2 a plus de 50 % de lipides, la gamme de composition est donc trop étroite pour prédire le comportement de ce lot.

Si on s'intéresse maintenant à la dégradation des protéines dans leur schéma réactionnel, on observe que la réaction de formation des DKP n'est pas prise en compte. En effet, ils considèrent que les produits de dégradation des AA ne se retrouvent qu'en phase aqueuse après désamination ou décarboxylation et que seuls les produits de Maillard se retrouvent dans la bio-huile. Or, on a vu précédemment dans le Chapitre IV que les DKP peuvent se retrouver à la fois dans la phase aqueuse et dans la bio-huile. De plus, la formation

de composés lourds retrouvés le char par condensation n'est pas considérée, or la formation de char a bien été observée en Chapitre III3, à haute température et long temps de séjour ou à basse température et faible temps de séjour.

On remarque également que les données au point initial (début du palier à 200, 250, 300 et 350 °C) ne sont pas prédites correctement car, comme évoqué précédemment, les rampes de températures élevées ne sont pas considérées dans ce modèle donc un temps de séjour initial correspond à un rendement de 0 ou 1 % en bio-huile dans leur cas.

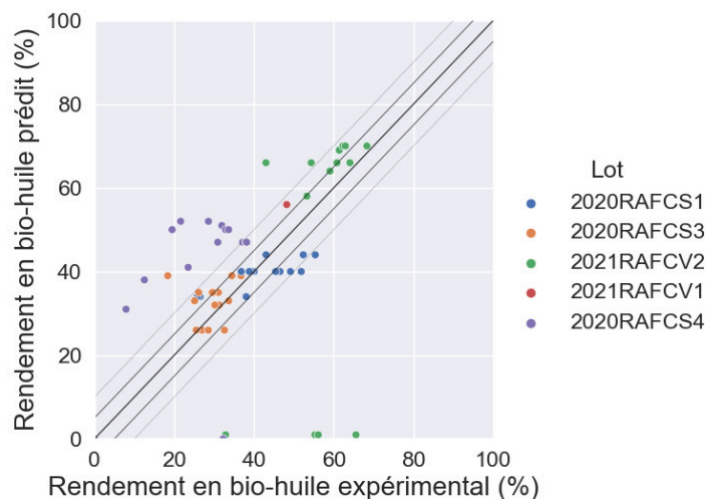


Figure V-4 : Comparaison entre les résultats prédits par le modèle de Hietala et Savage [1] et les données expérimentales

Finalement, le modèle proposé par Hietala et Savage [1] (le plus récent dans la littérature) ne s'applique qu'en partie à nos données. Cela est dû au manque de détails par rapport à la dégradation des lipides et protéines et aux interactions entre lipides et carbohydrates. Mais cela peut être aussi dû à la plage de composition biochimique des algues de départ plus réduite et au fait que dans leur modèle, la rampe de chauffe n'est pas prise en compte. Un modèle cinétique basé sur le schéma réactionnel présenté précédemment (Figure IV-39) est donc proposé pour modéliser les données issues d'HTL de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris*.

3. Modélisation cinétique basée sur l'étude réactionnelle

1.1. Développement du schéma réactionnel dédié au modèle cinétique

Le développement d'un modèle cinétique pouvant prédire les rendements des différentes phases lors d'HTL de micro-algues implique la connaissance du schéma réactionnel associé à cette transformation. Le schéma réactionnel utilisé pour le modèle cinétique, représenté en Figure V-5, a été déduit de celui proposé en Figure IV-39 et s'est aussi basé sur les précédents modèles réalisés au laboratoire (voir Chapitre II5.3) et dans la littérature. L'eau n'est pas représentée sur le schéma réactionnel afin de ne pas surcharger la figure et la répartition des familles de molécules dans les différentes phases a été fixée suite aux observations faites dans le Chapitre IV et dans le Chapitre I. C'est ce dernier point qui guidera la prédiction des rendements, la simplification du schéma réactionnel a donc été effectuée dans ce sens. Autrement dit, les familles de molécules successives et présentes dans la même phase (bio-huile, char, phase aqueuse ou mélange) dans le schéma réactionnel ont été regroupées. Par exemple, le schéma réactionnel en Figure IV-39 indique une décomposition du *glycérol* en *aldéhydes et alcools* et ces deux familles de molécules sont présentes uniquement en phase aqueuse donc, dans le schéma réactionnel dédié au modèle cinétique, seule la famille **Glycérol** a été considérée. De plus, les familles **aldéhydes/acides** et **composés lourds 1 et 2** ont été rajoutées par rapport au schéma réactionnel proposé en chapitre IV car ces composés sont couramment observés dans la littérature.

L'initiation du modèle cinétique est basée sur la répartition des composés de la biomasse de départ (lipides, protéines, carbohydrates et cendres) dans les différentes phases. Cependant, il est difficile de savoir comment répartir ces macromolécules dans les différentes phases car l'application du protocole d'extraction de bio-huile dans les conditions initiales n'est pas représentative du taux de bio-huile et de char. Celui-ci est spécifique aux produits obtenus en sortie d'HTL et ces derniers n'étant pas formés à basse température, la composition initiale devrait être égale à 0. Or, la modélisation n'est pas possible si la masse renseignée en entrée n'est pas égale à la masse obtenue en sortie. On a donc émis des hypothèses quant à la répartition de la composition dans les différentes phases. Hietala et al. [1] propose que les lipides soient inclus dans la bio-huile et le char, et les protéines et carbohydrates dans la bio-huile et la phase aqueuse. Physiquement, une grande partie massique reste en phase

Par la suite, les **acides gras** sont décarboxylés en **alcane, alcène et alcool**, on a donc une voie de production de CO_2 . Les **acides aminés** suivent une voie de désamination menant aux familles nommées **acides carboxyliques** et NH_3 et une voie de décarboxylation menant à la production d'**amines** et de CO_2 . Ici, seul le CO_2 est indiqué en phase gazeuse, le reste des produits sont supposés être en phase aqueuse. La voie de dimérisation des acides aminés a également été considérée car les dicétopipérazines (nommée **DKP** dans le schéma) ont été observées à la fois en phase aqueuse et dans la bio-huile (voir Tableau IV-1 et Tableau IV-3), tout comme les **pyrrolidones** issues de la dégradation des dicétopipérazines et détectées en phase aqueuse. D'après le schéma réactionnel, les **amines** et **acides carboxyliques** subissent ensuite des désaminations et décarboxylations respectivement, mais également des hydrogénations pour les **acides carboxyliques**. Tous ces produits ont été détectés à la fois en phase aqueuse et dans l'huile (voir Chapitre IV), ce qui mène à la famille nommée **produits de décomposition**. Les unités de sucres sont décomposées en **composés cycliques oxygénés et aromatiques** et en **aldéhydes et acides**. Les familles restantes : **esters, amides, mélanoidines, produits de Maillard** et **pyrroles** sont issues de réactions intermoléculaires. Comme son nom l'indique, la famille **mélanoidines** correspond aux mélanoidines formées dans le char suite aux réactions de Maillard et se décompose ensuite en **produits de Maillard** soluble dans l'huile et dans le char. Les voies observées uniquement pour certains acides aminés (comme le caprolactame pour les acides aminés basiques) n'ont pas été précisées. Les **composés lourds 1 et 2** correspondants aux produits de condensation solubles dans la bio-huile et le char, respectivement, ont également été introduits dans modèle. Cependant, le peu d'information tiré en chapitre IV concernant la formation des composés lourds dans la bio-huile ne nous permet pas de valider cette voie réactionnelle. Les correspondances entre les familles du schéma réactionnel du modèle cinétique et celles du schéma réactionnel proposé en Figure IV-39 sont exposées en annexe 5-A.

Finalement, l'évolution de 26 familles de molécules va être modélisée à travers la variation des rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz, ce qui mènera à des profils d'espèces (en g/L) pour chaque famille de molécule. Par exemple, l'évolution au cours du temps et de la température de la famille **produits de décompositions** sera basée sur le fait que ces produits se répartissent entre la phase aqueuse et la bio-huile et qu'ils peuvent ensuite participer à la formation d'esters solubles dans la bio-huile (nommés **esters** dans la Figure V-5). Ces profils permettront d'évaluer la représentativité du modèle vis-à-vis des observations réalisées en Chapitre III et Chapitre IV. Le Tableau V-2 regroupe les 19 réactions considérées avec la numérotation des voies réactionnelles correspondant aux constantes cinétiques.

Tableau V-2 : Voies réactionnelles intégrées dans le modèle cinétique

Voie réactionnelle	Réaction	Réactif	Produit
(1)	Dissolution	Cs	CsD
(2)	Hydrolyse	Carb, H ₂ O	Suc
(3)	Hydrolyse	Pro, H ₂ O	AA
(4)	Désamination	AA, Amn	AC, PdD, NH ₃
(5)	Formation mélanoïdines	AA, Suc	Mel
(6)	Hydrolyse	Lip, H ₂ O	AG, Gly
(7)	Dimérisation	AA	DKP, H ₂ O
(8)	Déshydratation	Suc	CCOA, H ₂ O
(9)	Formation des amides	AA, AG	Amd
(10)	Retro aldol	Suc	Ald
(11)	Condensation	CCOA, PdM	CL1
(12)	Formation des pyrroles	Ac, Amn	Pyr
(13)	Décarboxylation	AA, AC	Amn, PdD, CO ₂
(14)	Décarboxylation	AG	Alc, CO ₂
(15)	Formation des pyrrolidones	DKP	Pyrid
(16)	Formation des pyrroles	DKP	Pyr
(17)	Estérification	AG, PdD	Est
(18)	Réaction de Maillard	Mel	PdM, H ₂ O
(19)	Condensation	CL1	CL2

Chaque voie réactionnelle est décrite ci-dessous en utilisant les acronymes précisés en annexe 5-A pour les réactifs et les produits.

Voie réactionnelle (1) : Dissolution des cendres

Compte tenu de leur composition, les cendres sont dissoutes principalement dans la phase aqueuse. On considère donc une réaction d'ordre 1 menant à des cendres dissoutes dans cette phase (eq. (5. 1)) avec les équations de vitesse correspondantes (eq. (5. 2) et (5. 3)).



$$\frac{d[Cs]}{dt} = -k_1[Cs] \quad (5. 2)$$

$$\frac{d[CsD]}{dt} = k_1[Cs] \quad (5. 3)$$

Voie réactionnelle (2), (3), (6) : Hydrolyse des carbohydrates, protéines et lipides

Les carbohydrates, protéines et lipides suivent la même voie réactionnelle (hydrolyse) mais étant donné la structure de chaque macromolécule, la constante cinétique n'est pas similaire. La constante k_2 a été associée à l'hydrolyse des carbohydrates (eq. (5. 4)), k_3 à celle des protéines (eq. (5. 9)) et k_6 à celle des lipides (eq. (5. 14)). On considère ici des réactions

de pseudo-ordre 1 compte tenu de la concentration de l'eau, peu variable. La vitesse de dégradation des carbohydrates est décrite par l'équation (5. 5) et de formation des sucres en équation (5. 7). De même pour les protéines et les lipides. Les différentes équations incluent des facteurs f qui prennent en compte les masses molaires de différents composés. C'est un facteur de masse stœchiométrique qui représente la fraction massique de réactif qui réagit dans une voie réactionnelle (dans le cas de deux réactifs) ou la fraction massique de produits formés (dans le cas de la formation de deux produits). Par exemple, dans la *voie réactionnelle* (6) (eq. (5. 14)) , le facteur f_3 (eq. (5. 19)) correspond à la proportion massique de lipides qui va donner des acides gras. La masse molaire des lipides (M_{Lip}) a été déterminée en prenant la masse de chaque acide gras multipliée par la proportion de ces acides gras dans les algues. La méthode de calcul des masses molaires est détaillée en annexe 5-B.



$$\frac{d[\text{Carb}]}{dt} = -f_1 k_2 [\text{Carb}] \quad (5. 5)$$

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}]}{dt} = -(1 - f_1) k_2 [\text{Carb}] \quad (5. 6)$$

$$\frac{d[\text{Suc}]}{dt} = k_2 [\text{Carb}] \quad (5. 7)$$

$$f_1 = \frac{M_{\text{Carb}}}{M_{\text{Carb}} + M_{\text{H}_2\text{O}}} = \frac{M_{\text{suc}} - M_{\text{H}_2\text{O}}}{M_{\text{suc}}} \quad (5. 8)$$



$$\frac{d[\text{Pro}]}{dt} = -f_2 k_3 [\text{Pro}] \quad (5. 10)$$

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}]}{dt} = -(1 - f_2) k_3 [\text{Pro}] \quad (5. 11)$$

$$\frac{d[\text{AA}]}{dt} = k_3 [\text{Pro}] \quad (5. 12)$$

$$f_2 = \frac{M_{\text{AA}} - M_{\text{H}_2\text{O}}}{M_{\text{AA}}} \quad (5. 13)$$



$$\frac{d[\text{Lip}]}{dt} = -f_3 k_6 [\text{Lip}] \quad (5. 15)$$

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}]}{dt} = -(1 - f_3) k_6 [\text{Lip}] \quad (5. 16)$$

$$\frac{d[\text{AG}]}{dt} = f_4 k_6 [\text{Lip}] \quad (5. 17)$$

$$\frac{d[\text{Gly}]}{dt} = (1 - f_4) k_6 [\text{Lip}] \quad (5. 18)$$

$$f_3 = \frac{M_{Lip}}{M_{Lip} + M_{H_2O}} = \frac{M_{AG} + M_{Gly} - M_{H_2O}}{M_{AG} + M_{Gly}} \quad (5. 19)$$

$$f_4 = \frac{M_{AG}}{M_{AG} + M_{Gly}} \quad (5. 20)$$

Voie réactionnelle (4) : Désamination des acides aminés et des amines

Afin de réduire le nombre de constantes cinétiques à déterminer, celle associée à la désamination des acides aminés et des amines est supposée égale, on fixe donc pour les deux réactions (eq. (5. 21) et (5. 26)), la constante k_4 . On globalise ici ces deux familles même si d'un point de vue réactionnel, la constante cinétique associée à la dégradation de ces deux composés n'est pas égale. Les réactions sont d'ordre 1 et la masse molaire des amines (M_{Amn}) considérée dans l'équation (5. 30) a été déterminée en faisant une moyenne des masses molaires des molécules théoriquement présentes dans ces familles (voir annexe 5-B).



$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_4[AA] \quad (5. 22)$$

$$\frac{d[AC]}{dt} = f_5 k_4 [AA] \quad (5. 23)$$

$$\frac{d[NH_3]}{dt} = (1 - f_5) k_4 [AA] \quad (5. 24)$$

$$f_5 = \frac{M_{AA} - M_{NH_3}}{M_{AA}} \quad (5. 25)$$



$$\frac{d[Amn]}{dt} = -k_4[Amn] \quad (5. 27)$$

$$\frac{d[PdD]}{dt} = f_6 k_4 [Amn] \quad (5. 28)$$

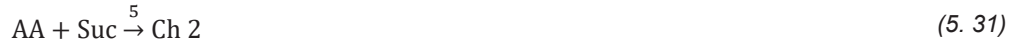
$$\frac{d[NH_3]}{dt} = (1 - f_6) k_4 [Amn] \quad (5. 29)$$

$$f_6 = \frac{M_{Amn} - M_{NH_3}}{M_{Amn}} \quad (5. 30)$$

Voie réactionnelle (5) : Formation des mélanoidines

Cette voie est liée à la formation des mélanoidines suite à la réaction de Maillard entre acides aminés et sucres (voir Chapitre I4.5.1) qui mène dans un premier temps à des composés à haut poids moléculaire dans le char puis à des composés solubles dans l'huile et

la phase aqueuse (*voie réactionnelle (18)*). On a ici une réaction d'ordre 2 (eq. (5. 31)) qui implique un facteur massique f_7 (eq. (5. 35)).



$$\frac{d[AA]}{dt} = -f_7 k_5 [AA][Suc] \quad (5. 32)$$

$$\frac{d[Suc]}{dt} = -(1 - f_7) k_5 [AA][Suc] \quad (5. 33)$$

$$\frac{d[Ch\ 2]}{dt} = k_5 [AA][Suc] \quad (5. 34)$$

$$f_7 = \frac{M_{AA}}{M_{AA} + M_{Suc}} \quad (5. 35)$$

Voie réactionnelle (7) : Dimérisation des acides aminés

Comme exposé dans le Chapitre IV1.1.1, la formation de dicétopipérazine est liée à une réaction de dimérisation des acides aminés suivie par une cyclisation, ce qui mène à la libération d'eau. Cette réaction est d'ordre 2 car elle implique deux acides aminés.



$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_7 [AA]^2 \quad (5. 37)$$

$$\frac{d[DKP]}{dt} = f_8 k_7 [AA]^2 \quad (5. 38)$$

$$\frac{d[H_2O]}{dt} = (1 - f_8) k_7 [AA]^2 \quad (5. 39)$$

$$f_8 = \frac{2M_{AA} - M_{H_2O}}{2M_{AA}} \quad (5. 40)$$

Voie réactionnelle (8) et (10): Décomposition des sucres

La décomposition des sucres suit deux voies réactionnelles, une voie de déshydratation, décrite par la constante k_8 (eq. (5. 41)) et une voie de réaction rétro-aldol menant à la formation d'aldéhydes et décrite par la constante k_{10} (eq. (5. 46)). Cette dernière a également été considérée dans le modèle de Hietala et Savage [1]. On différenciera donc ces deux voies réactionnelles.



$$\frac{d[Suc]}{dt} = -k_8 [Suc] \quad (5. 42)$$

$$\frac{d[CCOA]}{dt} = f_9 k_8 [Suc] \quad (5. 43)$$

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}]}{dt} = (1 - f_9)k_8[\text{Suc}] \quad (5.44)$$

$$f_9 = \frac{M_{\text{Suc}} - M_{\text{H}_2\text{O}}}{M_{\text{Suc}}} \quad (5.45)$$



$$\frac{d[\text{Suc}]}{dt} = -k_{10}[\text{Suc}] \quad (5.47)$$

$$\frac{d[\text{Ald}]}{dt} = k_{10}[\text{Suc}] \quad (5.48)$$

Voie réactionnelle (9) : Formation des amides

La formation des amides (eq. (5.49)) est décrite par une réaction d'ordre 2 prenant en compte les acides aminés et les acides gras comme réactifs. Seule la réaction décrite dans le Chapitre IV.5.2 a été considérée car la formation d'amides entre les produits de dégradation des acides aminés n'a pas été observée lors des analyses de la bio-huile et de la phase aqueuse.



$$\frac{d[\text{AA}]}{dt} = -f_{10}k_9[\text{AA}][\text{AG}] \quad (5.50)$$

$$\frac{d[\text{AG}]}{dt} = -(1 - f_{10})k_9[\text{AA}][\text{AG}] \quad (5.51)$$

$$\frac{d[\text{Amd}]}{dt} = k_9[\text{AA}]^2 \quad (5.52)$$

$$f_{10} = \frac{M_{\text{AA}}}{M_{\text{AA}} + M_{\text{AG}}} \quad (5.53)$$

Voie réactionnelle (11) : Formation de composés lourds 1

Comme expliqué dans le Chapitre I et observé lors de l'analyse FT-ICR de la bio-huile (Chapitre IV.2.1.3), des molécules polyaromatiques oxygénées peuvent être formées par condensation et augmenter le rendement en char. Par simplification, une réaction d'ordre 2 entre les composés cycliques oxygénés et aromatiques et les produits de Maillard a été considérée (eq. (5.54)) car aucune voie réactionnelle n'est aujourd'hui répertoriée dans la littérature. De même, la masse molaire de ces familles de molécules n'étant pas connue, le facteur de masse f_{11} a été fixé à 0,5.



$$\frac{d[\text{CCOA}]}{dt} = -f_{11}k_{11}[\text{CCOA}][\text{PdM}] \quad (5.55)$$

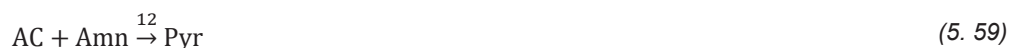
$$\frac{d[\text{PdM}]}{dt} = -(1 - f_{11})k_{11}[\text{CCOA}][\text{PdM}] \quad (5.56)$$

$$\frac{d[\text{CL1}]}{dt} = k_{11}[\text{CCOA}][\text{PdM}] \quad (5.57)$$

$$f_{11} = 0,5 \quad (5.58)$$

Voie réactionnelle (12) et (16) : Formation des pyrroles

La formation des pyrroles est décrite par deux voies réactionnelles, la première est associée à la combinaison des acides carboxyliques et des amines comme décrit dans l'état de l'art (eq. (5. 59)) et la deuxième à la décomposition des DKP (eq. (5. 64)). Cependant, le mécanisme réactionnel lié à la dégradation des DKP n'est pas décrit dans la littérature donc un simple passage des DKP présentes dans la bio-huile et la phase aqueuse à des pyrroles présentes dans la bio-huile a été décrit. La masse molaire des acides carboxyliques (M_{AC}) considérée dans l'équation (5. 63) a été déterminée en faisant une moyenne des masses molaires des molécules théoriquement présentes dans ces familles (voir annexe 5-B).



$$\frac{d[\text{AC}]}{dt} = -f_{12}k_{12}[\text{AC}][\text{Amn}] \quad (5.60)$$

$$\frac{d[\text{Amn}]}{dt} = -(1 - f_{12})k_{12}[\text{AC}][\text{Amn}] \quad (5.61)$$

$$\frac{d[\text{Pyr}]}{dt} = k_{12}[\text{AC}][\text{Amn}] \quad (5.62)$$

$$f_{12} = \frac{M_{AC}}{M_{AC} + M_{Amn}} \quad (5.63)$$



$$\frac{d[\text{DKP}]}{dt} = -k_{16}[\text{DKP}] \quad (5.65)$$

$$\frac{d[\text{Pyr}]}{dt} = k_{16}[\text{DKP}] \quad (5.66)$$

Voie réactionnelle (13) et (14): Décarboxylation des acides gras, des acides aminés et des acides carboxyliques

Par simplification, la décarboxylation des acides aminés (eq. (5. 72)) et carboxyliques (eq. (5. 77)) a été décrite par la même constante de vitesse. Cependant, comme observé dans les analyses (Chapitre IV), les acides aminés semblent se décomposer plus facilement que

les acides gras (probablement dû à la longueur de la chaîne carbonée), une constante de vitesse différente a donc été choisie pour la décarboxylation des acides gras (eq. (5. 67)).



$$\frac{d[AG]}{dt} = -k_{13}[AG] \quad (5. 68)$$

$$\frac{d[Alc]}{dt} = f_{13}k_{13}[AG] \quad (5. 69)$$

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = (1 - f_{13})k_{13}[AG] \quad (5. 70)$$

$$f_{13} = \frac{M_{AG} - M_{CO_2}}{M_{AG}} \quad (5. 71)$$



$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_{14}[AA] \quad (5. 73)$$

$$\frac{d[Amn]}{dt} = f_{14}k_{14}[AA] \quad (5. 74)$$

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = (1 - f_{14})k_{14}[AA] \quad (5. 75)$$

$$f_{14} = \frac{M_{AA} - M_{CO_2}}{M_{AA}} \quad (5. 76)$$



$$\frac{d[AC]}{dt} = -k_{14}[AC] \quad (5. 78)$$

$$\frac{d[PdD]}{dt} = f_{15}k_{14}[AC] \quad (5. 79)$$

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = (1 - f_{15})k_{14}[AC] \quad (5. 80)$$

$$f_{15} = \frac{M_{AC} - M_{CO_2}}{M_{AC}} \quad (5. 81)$$

Voie réactionnelle (15) : Formation des pyrrolidones

Tout comme pour la décomposition des DKP en pyrroles (*voie réactionnelle (16)*), la formation de pyrrolidones est citée dans la littérature et les produits ont été détectés en phase aqueuse (Tableau IV-3) mais aucune voie réactionnelle n'a été décrite. On considère donc une réaction d'ordre 1 (eq. (5. 82)).



$$\frac{d[\text{DKP}]}{dt} = -k_{15}[\text{DKP}] \quad (5.83)$$

$$\frac{d[\text{Pyrlid}]}{dt} = k_{15}[\text{DKP}] \quad (5.84)$$

Voie réactionnelle (17) : Estérification

On suppose ici que la formation des esters se fait entre les acides gras et les produits de décomposition des acides aminés tels que l'éthanol, bien que les produits de dégradation du glycérol contiennent également des alcools similaires (méthanol et éthanol). L'origine de la formation des esters en conditions d'HTL n'est à ce jour pas référencée dans la littérature, on considère donc une réaction d'ordre 2 entre les acides gras et les produits de décompositions.



$$\frac{d[\text{AG}]}{dt} = -(1 - f_{16})k_{17}[\text{AG}][\text{PdD}] \quad (5.86)$$

$$\frac{d[\text{PdD}]}{dt} = -f_{16}k_{17}[\text{AG}][\text{PdD}] \quad (5.87)$$

$$\frac{d[\text{Est}]}{dt} = k_{17}[\text{AG}][\text{PdD}] \quad (5.88)$$

$$f_{16} = \frac{M_{\text{Est}} - M_{\text{AG}}}{M_{\text{Est}}} \quad (5.89)$$

Voie réactionnelle (18) : Formation des produits de Maillard

La formation des produits de Maillard est bien décrite dans la littérature. Comme expliqué dans Chapitre I4.5.1, ils seraient issus de mélanoïdines formées en amont dans le char, qui s'hydrolyseraient en molécules solubles en phase aqueuse et dans la bio-huile. Cependant la voie réactionnelle associée à cette réaction n'a pas été décrite, on considère donc une réaction d'ordre 1 (eq. (5.90)).



$$\frac{d[\text{Mel}]}{dt} = -k_{18}[\text{Mel}] \quad (5.91)$$

$$\frac{d[\text{PdM}]}{dt} = k_{18}[\text{Mel}] \quad (5.92)$$

Voie réactionnelle (19) : Formation des composés lourds 2

Comme observé en chapitre III, les composés lourds dans le char semblent se former sous certaines conditions. Une voie réactionnelle a donc été considérée pour représenter le

passage des molécules lourdes dans l'huile (CL 1) issues des produits de Maillard et de dégradation des sucres à des molécules condensées dans le char (CL 2).



$$\frac{d[CL1]}{dt} = -k_{19}[CL2] \quad (5.94)$$

$$\frac{d[CL2]}{dt} = k_{19}[CL2] \quad (5.95)$$

Finalement, le Tableau V-3 regroupe les paramètres d'entrée du modèle et les grandeurs calculées. La principale différence avec les modèles considérés dans le Chapitre III est le fait que les paramètres prédits en sortie seront représentés en fonction du temps de séjour, de la température et de la concentration initiale en réactif car les constantes cinétiques varient en fonction de ces paramètres. En effet, les constantes cinétiques sont déterminées au préalable par optimisation donc les paramètres associés (température et temps de séjour) ne sont pas renseignés comme paramètres d'entrée au modèle.

Tableau V-3 : Paramètres d'entrée et grandeurs calculées pour la modélisation cinétique

Paramètres d'entrée	Grandeurs calculées	
Composition des micro-algues	Rendement massique des produits	Profils d'espèces
Lipides (%) Carbohydrates (%) Protéines (%) Cendres (%)	Rendement massique (%) en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz en fonction du temps et de la température	Concentration des familles moléculaires (g/L) en fonction du temps et de la température

1.2. Détermination des paramètres cinétiques

Comme expliqué dans le chapitre II, chaque constante cinétique est variable selon la température et est associée à une énergie d'activation et à un facteur pré-exponentiel. A l'aide des rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz renseignés à différentes températures et à la répartition de ces différentes phases dans les familles de molécules, le modèle optimise et détermine les constantes cinétique (E_a et A) pour chaque réaction.

Finalement le nombre de paramètres à déterminer pour le modèle est égal à : (19 voies) * (2 paramètres Arrhenius) = 38 pour un total de 248 données (64 essais * 4 rendements – 8 données manquantes). Les données manquantes correspondent à des mesures de gaz qui n'ont pas pu être faites pour 4 essais, ce qui implique également un rendement en phase

aqueuse manquant. Donc le ratio de données par rapport au nombre de paramètres est de $\frac{248}{38}$ soit 6,5.

1.3. Résultats

1.3.1. Prédiction des rendements des différents produits

Le modèle cinétique présenté ci-dessus permet de prédire le rendement en bio-huile, phase aqueuse, char et gaz. On remarque en Figure V-6 (a) que la majorité des points se trouve en dessous du seuil des 10 % par rapport à la médiane, ce qui prouve que le modèle représente correctement les données expérimentales. Le coefficient de corrélation calculé pour la modélisation du rendement en bio-huile est égal à 0,73. Valeur similaire à celle obtenue avec la modélisation par régression linéaire mais inférieure aux prédictions effectuées par *machine learning*. On remarque également que la prédiction du rendement en phase aqueuse (étoiles bleues sur la Figure V-6) est la moins précise, cela peut être dû à la faible précision du rendement massique expérimental pour la phase aqueuse car celui-ci est calculé par différence par rapport aux autres produits, l'erreur est donc conséquente.

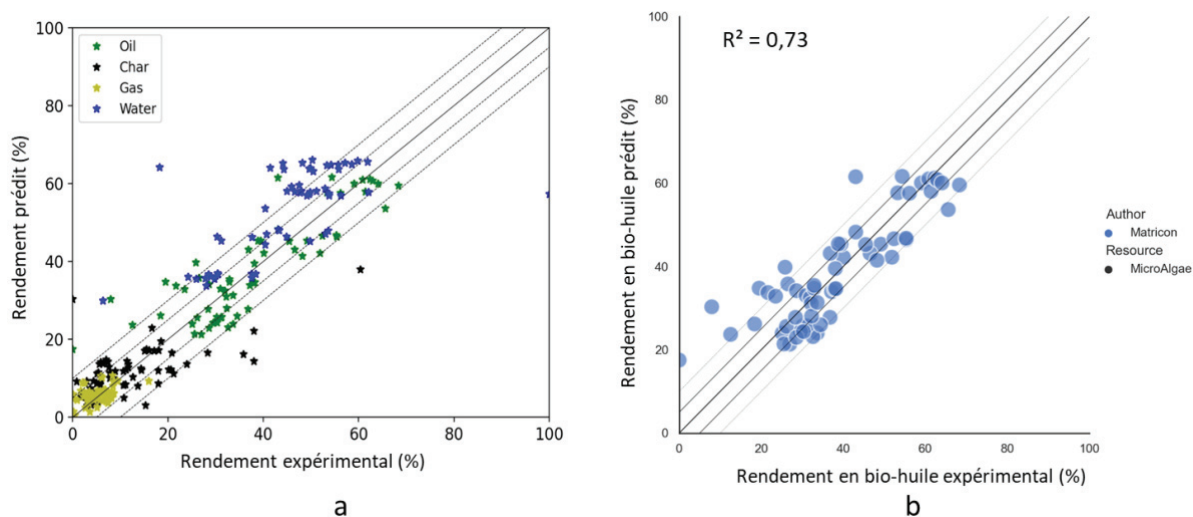


Figure V-6 : Application de la modélisation aux données expérimentales (a : sur les 4 produits ; b : sur la bio-huile)

L'évolution des rendements en bio-huile, char, gaz et phase aqueuse avec les points expérimentaux associés sont représentés pour *C. sorokiniana* en Figure V-7 et pour *C. vulgaris* en Figure V-8. De manière générale, les points expérimentaux sont bien représentés par la

modélisation, sauf pour les basses températures (200 et 250 °C). A ces températures, les conditions de liquéfaction hydrothermales ne sont pas atteintes, la biomasse subit à la place une dégradation de type carbonisation hydrothermale, favorisant la production de char et non de bio-huile. On observe donc pour les deux algues que la modélisation sous-estime la production de char, notamment à 200 °C au bout de 30 min de réaction. Le modèle cinétique considéré ne s'adapte pas à ce type de transformation.

La biomasse de départ étant répartie dans la phase solide en début de réaction, on observe, particulièrement pour *C. sorokiniana*, une baisse rapide du taux de char dès les premières minutes, qui correspond en fait à la dégradation de la biomasse. Tout comme la production immédiate de phase aqueuse. On distingue bien ici l'eau présente initialement dans le réacteur et utilisée pour diluer la biomasse de la phase aqueuse produite suite à l'HTL.

En observant plus en détail les résultats de *C. sorokiniana* (Figure V-7) et notamment la production de bio-huile, on observe que le rendement en bio-huile est favorisé à haute température. De plus, la production de char diminue avec la température et varie peu en fonction du temps de séjour. Le fait d'avoir peu de variations du rendement en bio-huile avec la température et le temps de séjour est cohérent avec les observations faites dans le Chapitre III sur 2020RAFCS3 qui a une composition similaire, riche en carbohydrates.

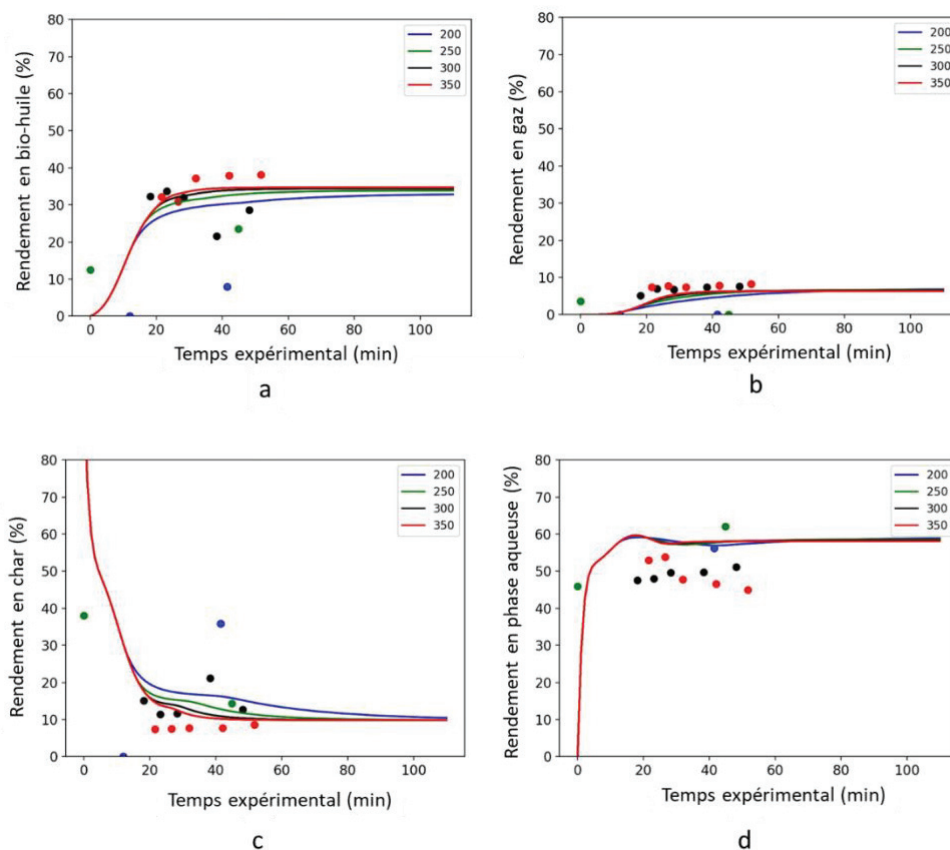


Figure V-7 : Modélisation appliquée aux données de *C. sorokiniana* (2020RAFCS4) pour les rendements massiques en bio-huile (a), en gaz (b), en char (c) et en phase aqueuse (d) à 200, 250, 300 et 350 °C

Dans le cas de *C. vulgaris* (Figure V-8), le rendement en bio-huile prédit est deux fois plus élevé, ce qui est cohérent avec les observations faites dans le chapitre III et qui est principalement dû au fort taux de lipides. De plus, selon la modélisation, la production de bio-huile se comporte de la même manière que ce soit à 300 ou à 350 °C. Cela n'est pas en accord avec la conclusion du chapitre III disant que pour une algue riche en lipides, le rendement est favorisé à 300 °C mais il est important de préciser que le manque de duplicatas ne permet pas d'amener ce degré de précision au modèle. On observe aussi que le point à 350 °C et 20 min ne suit pas la modélisation, un duplicata serait donc nécessaire pour confirmer cette valeur expérimentale. Les points expérimentaux du rendement en gaz suivent la courbe théorique mais, comme observé en Figure V-6, le rendement en phase aqueuse est difficilement prévisible, du fait de l'imprécision de cette valeur (déterminée par différence), ce qui est également le cas pour *C. sorokiniana*.

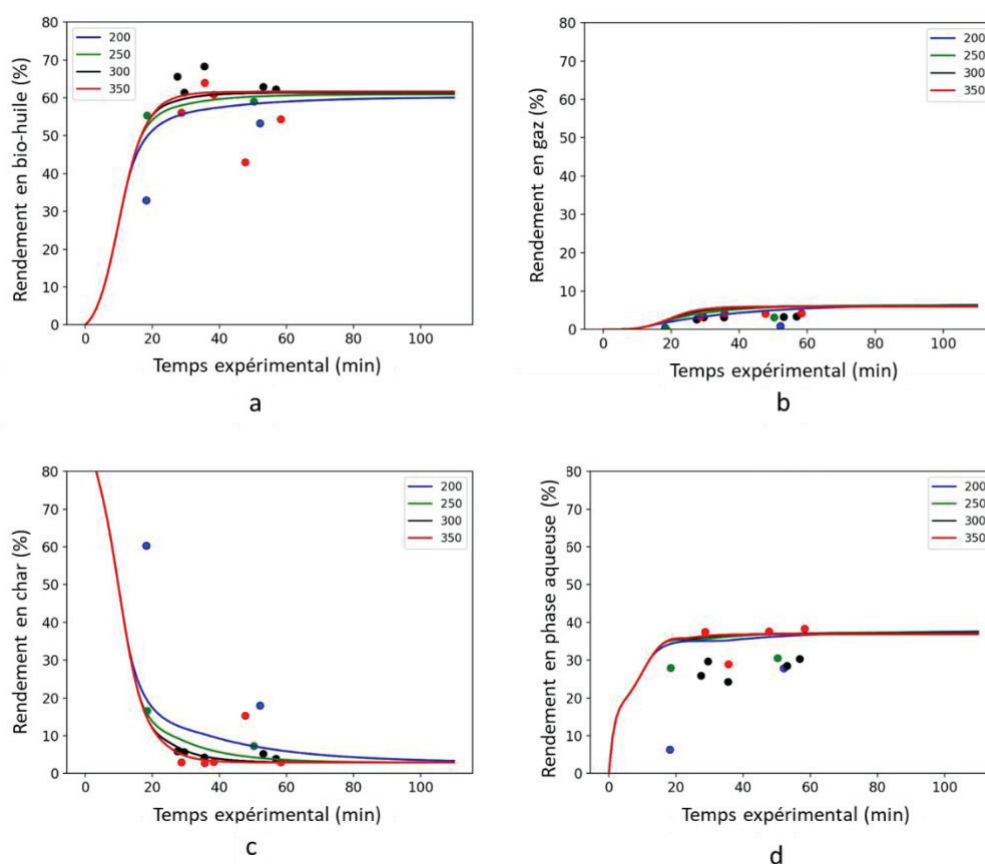


Figure V-8 : Modélisation appliquée aux données *C. vulgaris* (2021RAFV2) pour les rendements massiques en bio-huile (a), en gaz (b), en char (c) et en phase aqueuse (d) à 200, 250, 300 et 350 °C

Finalement, la précision du modèle est similaire que ce soit pour une algue riche en carbohydrates (2020RAFCS4) ou une algue riche en lipides (2021RAFV2). Cependant, le manque de duplicata et de données limite la précision du modèle. En effet, le ratio de données

par rapport au nombre de paramètres cinétiques à déterminer est de 6,5, ce qui est faible par rapport à celui reporté par Hietala et Savage [1], égal à 38,2. Il serait donc nécessaire de collecter d'avantages de données car la réduction du nombre de paramètres implique de trop grande simplification du schéma réactionnel.

1.3.2. Profils des familles de molécules et constantes cinétiques

Le profil des différentes familles de molécules a été représenté pour *C. sorokiniana* car la seule différence visible avec *C. vulgaris* est la concentration de départ en protéines, lipides et carbohydrates et par conséquent, la concentration des différentes familles de molécules plus ou moins élevée. Le profil de ces espèces pour *C. vulgaris* est regroupé en annexe 5-C. Les profils présentés ci-dessous prennent en compte la rampe de température (~ 15 °C/min), le palier de température est donc atteint au bout d'environ 20 min. Cependant, on observe bien avec la dégradation des protéines (Figure V-9), lipides (Figure V-10) et carbohydrates (Figure V-11) que les réactions d'hydrolyse ont lieu rapidement pendant la rampe de température, la réaction de liquéfaction hydrothermale commence donc avant d'avoir atteint le palier de température.

Les profils de dégradation des protéines et des cendres et les produits obtenus suite à leur conversion sont représentés en Figure V-9. On observe que les produits intermédiaires (acides aminés, DKP, amines et acides carboxyliques) sont formés directement en sortie d'hydrolyse et que globalement plus la température est élevée plus ils se dégradent rapidement en pyrrolidones, pyrroles, produits de décomposition ou en CO₂ et NH₃. On observe un comportement différent dans le cas de la formation de NH₃, de CO₂ et de produits de décompositions, leur concentration est dépendante à la fois de la température et du temps de séjour. De plus, on observe que les profils du CO₂ et de NH₃ sont directement reliés à la dégradation des acides carboxyliques et des amines, respectivement, ce qui est cohérent avec le schéma réactionnel. Pour les cendres, on observe qu'elles sont directement dissoutes en phase aqueuse et qu'il n'y a pas d'influence de la température. Les pyrroles et pyrrolidones ont le même profil, plus la température est élevée plus elles sont formées. En effet, globalement, à haute température la cinétique des réactions est plus rapide donc plus de réactifs (comme les DKP) menant à la formation de pyrrolidones sont formés, ce qui induit une quantité plus importante de pyrrolidones à haute température. De même pour les pyrroles, cela a été vérifié dans la partie suivante (partie 4).

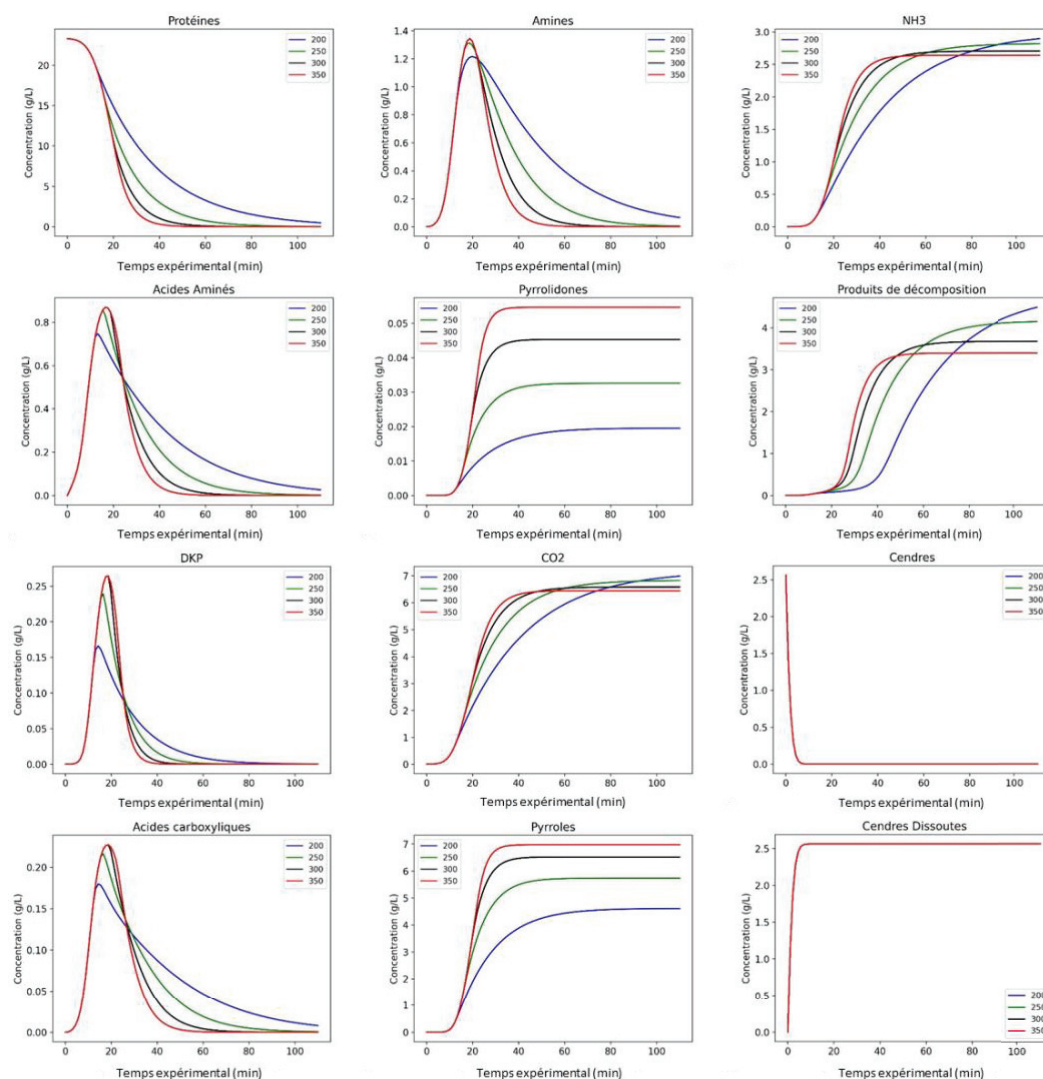


Figure V-9 : Profil de dégradation des protéines et cendres et de formation des produits correspondants

Dans le cas des lipides, on remarque qu'ils sont rapidement hydrolysés en glycérol et acides gras qui sont eux-mêmes dégradés en alcanes/alcènes et alcools. La température d'hydrolyse des lipides est de 280 °C , il est donc logique de les dégrader entièrement à la fin de la rampe de température [10,11]. Cependant, le fait qu'ils peuvent rester dans la bio-huile n'est pas correctement modélisé. Seuls les essais à basse température indiquent une dégradation lente des acides gras, or, même à haute température, on observe des acides gras non dégradés dans la bio-huile (Tableau IV-1). Ce point est difficile à prendre en compte car la quantification des espèces intermédiaires n'a pas pu être intégrée au modèle.

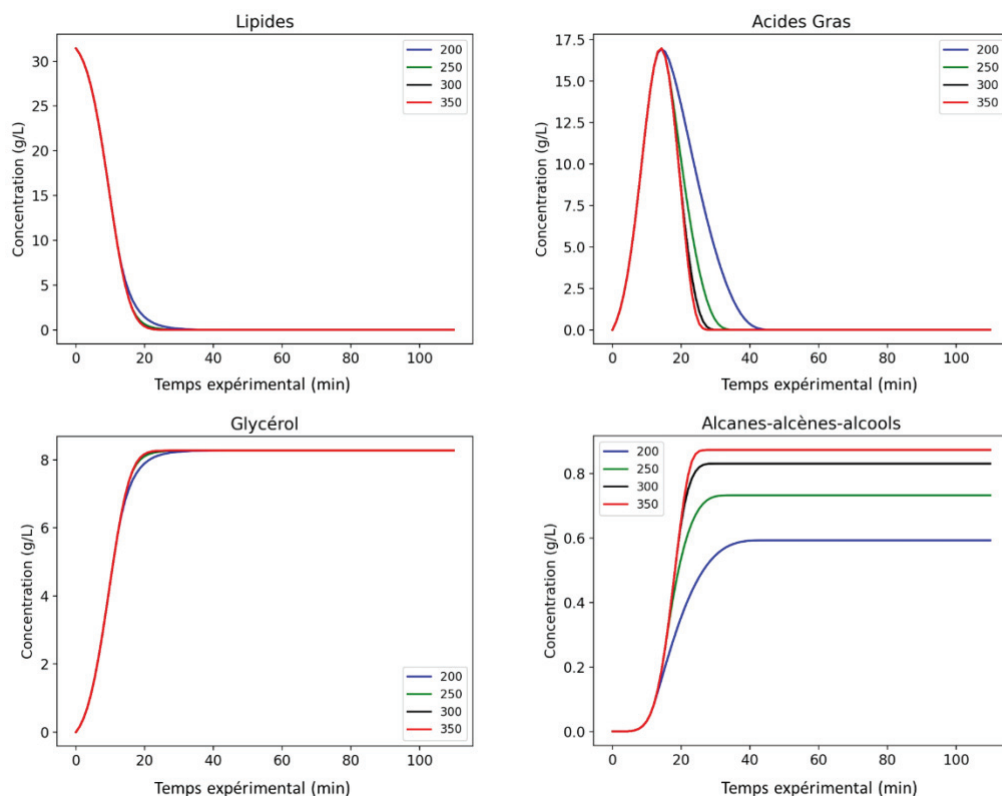


Figure V-10 : Profil de dégradation des lipides et de formation des produits correspondants

Comme l'indique la Figure V-11, les carbohydrates sont très rapidement hydrolysés en sucres puis dégradés en composés cycliques oxygénés par la voie de déshydratation et en aldéhydes et acides par la réaction rétro-aldol. Les composés cycliques oxygénés et aromatiques sont conservés en partie après HTL, ce qui est visible ici seulement à basse température. Comme pour les acides gras, ce point est difficile à prendre en compte car la quantification de cette famille n'a pas été intégrée au modèle.

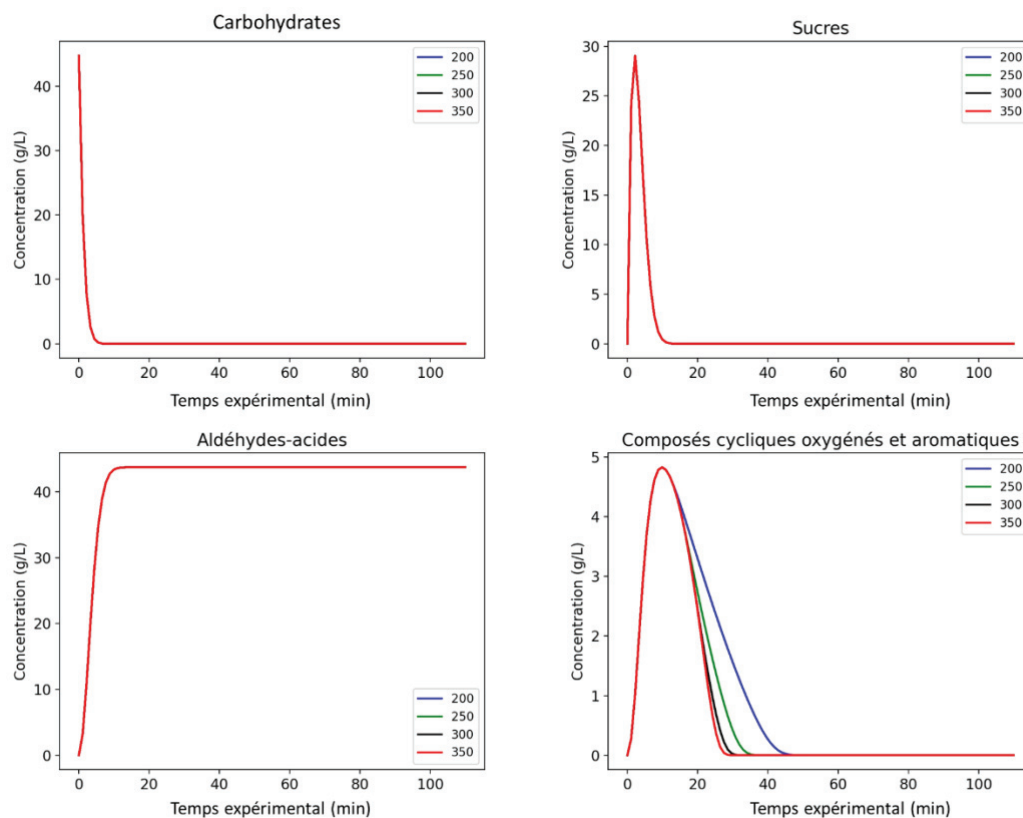


Figure V-11 : Profil de dégradation des carbohydrates et de formation des produits correspondants

Concernant l'évolution des produits issus de réactions intermoléculaires, représentée en Figure V-12, comme les mélanoidines et les produits de Maillard, on observe une forte dépendance à la température, plus la température augmente, plus la réaction est rapide. Dans le chapitre III, la formation de mélanoidines a été observée à haute température et haut temps de séjour pour la biomasse riche en protéines à 17% de MO. Ce comportement n'est pas pris en compte dans la modélisation, on voit en Figure V-12 que les mélanoidines sont produites directement au début du temps de palier. Cela montre que ce modèle cinétique ne s'adapte qu'à des concentrations de 10 % en MO dans le réacteur. Les produits de Maillard sont ensuite impliqués dans la formation de composés lourds 1 issus de condensations dans la bio-huile et qui au cours du temps seront transférés dans le char (composés lourds 2). Cela a été observé en chapitre III avec les analyses GPC-SEC (Chapitre III3).

La quantité d'amides formée diffère avec la température, en effet, les protéines et lipides se dégradent plus rapidement à haute température, les amides sont donc d'avantages produits. La formation d'esters diffère peu avec la température, dans tous les cas, la même quantité est formée.

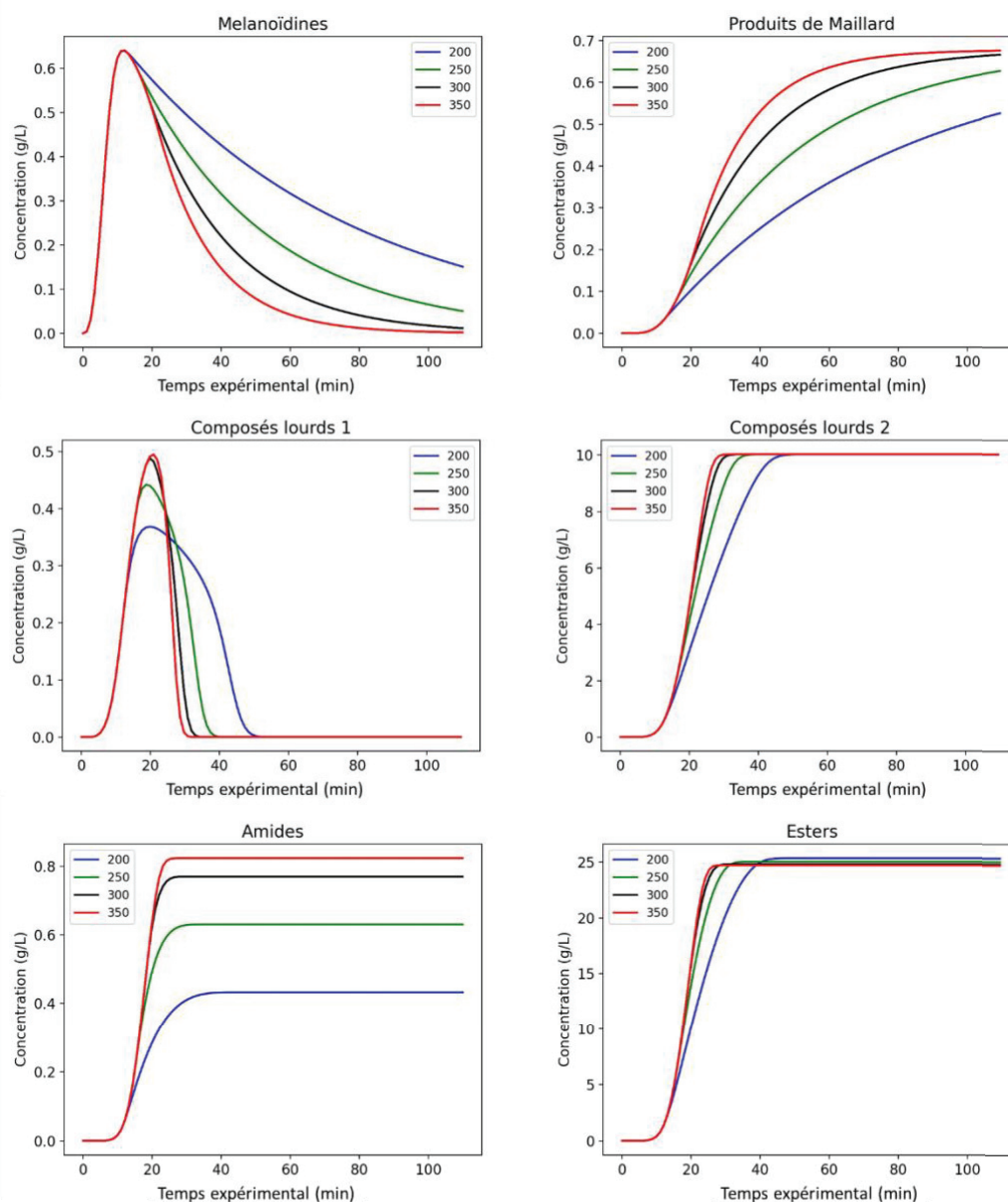


Figure V-12 : Profil de formation des produits issus de réactions intermoléculaires

Les profils de ces familles ont été déduit suite à l'optimisation des constantes réalisée grâce au rendement des différents produits et leur répartition dans les différentes phases. Ils nous permettent de voir si le modèle cinétique est en accord avec les observations faites dans les chapitres précédents. Finalement, les profils obtenus sont en accord avec les observations faites en chapitre III et IV, le schéma réactionnel décrit bien le comportement de la biomasse, mis à part pour les mélanoidines et les acides gras.

Afin de pouvoir comparer les différentes voies réactionnelles, les constantes cinétiques déterminées par le modèle sont présentées dans le Tableau V-4. Les résultats pourront être comparés à ceux obtenus par Morgane Briand [12] car le modèle cinétique est similaire à celui proposé ici et a été développé au sein du laboratoire.

On remarque que la plus faible énergie d'activation correspond à l'hydrolyse des carbohydrates, ce qui est cohérent avec les observations faites dans la littérature mais contraire aux constantes déterminées par Hietala et Savage [1]. En conditions d'HTL, l'hydrolyse a lieu premièrement sur les carbohydrates, ensuite sur les lipides puis sur protéines (voir Chapitre I4) [10,13,14]. Morgane Briand a obtenu une énergie d'activation plus élevée (25,3 kJ/mol) pour les carbohydrates que pour les lipides (10 kJ/mol), le schéma cinétique proposé dans cette thèse modifie donc la cinétique de ces réactions et se rapproche d'avantages des observations de la littérature. Cependant, les modèles cinétiques considérés par Sheehan et Savage [15] et The Ky Vo et al. [5] déterminent une constante cinétique plus élevée pour l'hydrolyse des carbohydrates que pour les lipides et protéines, l'ordre de dégradation serait donc à confirmer en étudiant la dégradation des carbohydrates, des lipides et des protéines à l'aide de la quantification des produits (glucose, acides gras et protéines). La nature des carbohydrates est également à considérer, dans le cas du modèle proposé par Morgane Briand, la biomasse est composée à moitié de cellulose et d'hémicellulose, la vitesse de dégradation ne sera donc pas forcément la même que pour les carbohydrates présents dans les micro-algues qui ont une structure moléculaire différente.

Les énergies d'activation les plus élevées sont pour la formation d'amides et la décarboxylation des acides gras. Cela a également été observé dans le modèle de Morgane Briand [12]. En effet, d'après le chapitre IV, la décarboxylation des acides gras est difficile, même à haute température on observe des acides gras non décarboxylés dans la bio-huile. De même pour les amides. Ces molécules sont donc stables en conditions de liquéfaction hydrothermales et nécessitent de hautes températures pour se dégrader. De plus, si on compare les énergies d'activation associées aux réactions 13 et 14, égales à 29,5 et 9,9 kJ/mol respectivement, on confirme bien l'hypothèse émise en chapitre IV disant que plus la chaîne carbonée est courte plus la réaction de décarboxylation est favorisée. Cependant, l'énergie d'activation considérée pour les cendres devraient être une des plus faibles étant donné que la réaction considérée ici est une simple dissolution en phase aqueuse, ce qui n'est pas le cas. Le comportement des cendres est en effet peu décrit dans la littérature, on a considéré ici la dissolution comme une réaction d'ordre 1 avec une constante de vitesse cinétique mais il serait intéressant d'inclure, non pas une constante de vitesse mais une constante de solubilité, variable en fonction de la température. Globalement, toutes les constantes déterminées dans le modèle de Hietala et Savage [1] sont dix fois plus élevée que celles obtenues ici. Cela peut être dû au fait que les essais ont été réalisés en micro-batch et que le modèle ne prend pas en compte la rampe de température.

L'énergie d'activation associée à la réaction de Maillard est quasiment égale à celle obtenue par le modèle de Morgane Briand [12], 15,8 kJ/mol contre 17 kJ/mol dans son cas.

Ce qui est cohérent, car la voie réactionnelle proposée dans son schéma réactionnel est similaire à celle proposée ici. Cependant, on propose ici une première formation de mélanoidines dans le char puis un passage en bio-huile, ce qui n'est pas le cas dans le modèle proposé par Morgane Briand, qui envisage une répartition entre la bio-huile et le char.

Tableau V-4 : Constantes cinétiques issues de l'optimisation du modèle cinétique

Voie réactionnelle	A		Ea (kJ/mol)
	Valeur	Unité	
$Cs \xrightarrow{1} CsD$	12,4	s^{-1}	7,8
$Carb + H_2O \xrightarrow{2} Suc$	12,8	s^{-1}	6,9
$Pro + H_2O \xrightarrow{3} AA$	26,6	s^{-1}	25,2
$AA \xrightarrow{4} AC + NH_3$	7,3	s^{-1}	14,0
$AA + Suc \xrightarrow{5} Mel$	8,9	$L.g^{-1}.s^{-1}$	15,8
$Lip + H_2O \xrightarrow{6} AG + Gly$	23	s^{-1}	17,7
$2 AA \xrightarrow{7} DKP + H_2O$	12,4	$L.g^{-1}.s^{-1}$	13,9
$Suc \xrightarrow{8} CCOA + H_2O$	9,8	s^{-1}	15,6
$AA + AG \xrightarrow{9} Amd$	4,7	$L.g^{-1}.s^{-1}$	29,5
$Suc \xrightarrow{10} Ald$	12,4	s^{-1}	10,3
$CCOA + PdM \xrightarrow{11} CL1$	11,7	$L.g^{-1}.s^{-1}$	8,2
$AC + Amn \xrightarrow{12} Pyr$	12	$L.g^{-1}.s^{-1}$	16,5
$AG \xrightarrow{13} Alc + CO_2$	4,6	s^{-1}	29,5
$AC \xrightarrow{14} PdD + CO_2$ $AA \xrightarrow{14} Amn + CO_2$	7,9	s^{-1}	9,9
$DKP \xrightarrow{15} Pyrld$	2,5	s^{-1}	23,8
$DKP \xrightarrow{16} Pyr$	14,2	s^{-1}	10,1
$AG + PdD \xrightarrow{17} Est$	13,7	$L.g^{-1}.s^{-1}$	9,8
$Mel \xrightarrow{18} PdM$	5,8	s^{-1}	23,5
$CL1 \xrightarrow{19} CL2$	12,6	s^{-1}	9,9

1.4. Conclusion

En comparant, le modèle cinétique présenté ci-dessus aux résultats obtenus dans le chapitre III et IV, on met en avant le fait que cette modélisation représente correctement le comportement des micro-algues en conditions d'HTL. La modélisation cinétique considérée ici a été améliorée par rapport à celle proposée dans de précédents travaux au laboratoire [12]. En effet, la modification du schéma réactionnel par rapport aux analyses de la bio-huile et de la phase aqueuse, la prise en compte de l'eau et le calcul des facteurs de répartition massique ont permis de se rapprocher des conditions réelles. De plus, par rapport aux modélisations proposés précédemment [1,2,5], le schéma réactionnel associé considère plus de voies réactionnelles et se rapproche donc plus de la réalité. Cependant la prédiction des rendements en bio-huile est moins précise qu'avec la modélisation par régression linéaire où l'on a obtenu un coefficient de corrélation de 0,77 contre 0,73 ici.

De nombreux points d'amélioration sont encore possibles, comme la meilleure prise en compte du solvant, en effet, le coefficient de répartition entre la bio-huile et la phase aqueuse a été fixé de manière arbitraire à 0,5, ce qui n'est pas représentatif de la réalité. Le fait de considérer un volume fixe dans le réacteur n'est également pas réel, le volume est variable selon la température. De plus, de nombreuses réactions n'ont pas été incluses au modèle par manque de données comme la réaction entre les produits de décomposition du glycérol et les acides gras pour former des esters ou encore la formation de caprolactame. Plus on ajoute de constantes de vitesse, plus le nombre de données utilisé pour optimiser le modèle doit être conséquent. Une des solutions appliquée par Hietala et Savage [1] pour augmenter le nombre de données est de prendre en compte le taux de carbone et d'azote dans les produits (bio-huile, char, phase aqueuse) mais cela n'est possible que si le bilan carbone ou azote boucle à 100 %. Cela permet également de prédire en partie la qualité de la bio-huile produite, ce qui n'est pas le cas dans le modèle proposé ici.

Pour gagner en sensibilité et précision, un schéma cinétique plus détaillé et une quantification des composés est alors nécessaire. Cette approche permettrait d'avoir des valeurs expérimentales concernant les énergies d'activation de chaque réaction et non des valeurs optimisées seulement sur les rendements. Le Chapitre IV dédié à l'analyse des produits a permis de faire un lien entre les acides aminés et les produits azotés ou oxygénés détectés dans les différents produits, la Figure V-13 regroupe les voies identifiées. Ce sont les principales voies de formation des composés azotés autres que les produits de Maillard. Il serait donc intéressant d'intégrer ces voies à un schéma réactionnel et de quantifier les molécules azotées et oxygénées correspondantes dans la bio-huile et la phase aqueuse. De

plus, la compréhension du mécanisme réactionnel associé à la formation de ces composés permettrait de réaliser un modèle cinétique molaire et non massique, ce qui est plus cohérent en termes de réactivité. On remarque que la plupart des molécules azotées formées et issues d'acides aminés (Figure V-13) sont en phase aqueuse après HTL, le développement de méthode analytique de la phase aqueuse sera donc un point important pour réaliser un modèle cinétique plus détaillé. De plus, dans le cas d'une application cinétique, il est nécessaire de diminuer au maximum la rampe de température afin de minimiser les réactions secondaires.

La quantification de certaines molécules dans la bio-huile a été commencée et est présentée dans la dernière partie de ce chapitre mais leur origine n'est pas systématique définie. En effet, toutes les molécules détectées en GC*GC-FID ont été dosées, ce qui ne correspond pas forcément aux molécules présentées en Figure V-13 mais qui permet tout de même de conclure sur les conditions à appliquer pour minimiser la formation de certaines molécules azotées présentes dans la bio-huile.

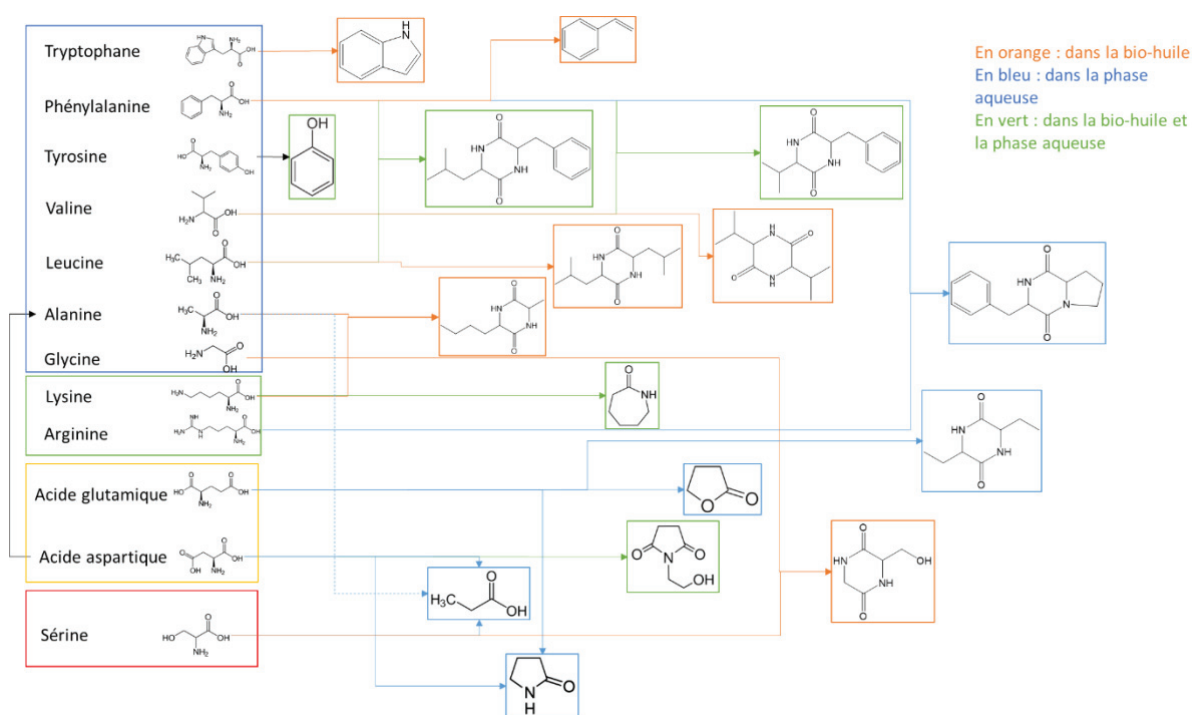
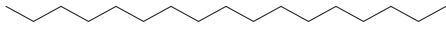
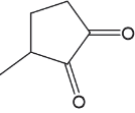
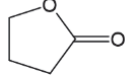
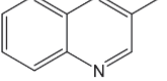
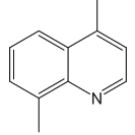
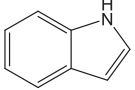
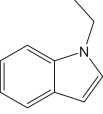
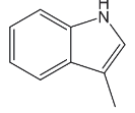
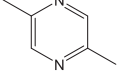
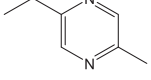


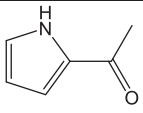
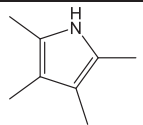
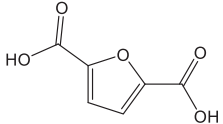
Figure V-13 : Schéma réactionnel ciblé sur la dégradation des acides aminés et la formation de composés azotés et oxygénés (en vert : dans l'huile et dans la phase aqueuse ; en orange dans l'huile et en bleu dans la phase aqueuse)

4. Profil d'espèces azotées et oxygénées : vers un schéma cinétique plus détaillé

Un suivi cinétique a été réalisé sur des molécules azotées et oxygénées présentes dans la bio-huile, cela a permis de voir dans quelles conditions elles sont formées. Cette étude a été réalisée sur *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*. Comme évoqué dans Chapitre IV, seule la fraction légère de la bio-huile a pu être caractérisée et la plupart des molécules identifiées en GC*GC-MS ont pu être dosées par étalonnage sur la GC*GC-FID. Le Tableau V-5 regroupe les molécules qui ont été dosées à différentes températures et temps de séjour.

Tableau V-5 : Espèces azotées et oxygénées suivies au cours du temps et de la température

Famille	Molécule dosée	Structure chimique
Alcanes ⁽¹⁾	Heptadécane	
Autres molécules seules	1,2-cyclopentanedione, 3-méthyl	
	γ-butyrolactone	
Pyrrolidines et quinolones	Quinoline, 3-méthyl	
	Quinoline, 4,8-diméthyl	
Indoles/indolizines	Indole	
	1H-indole, 1-éthyl	
	1H-indole, 3-méthyl	
Pyrazines	Pyrazine, 2,5-diméthyl	
	Pyrazine, 2-éthyl-5-méthyl	

Pyrroles	1H-Pyrrole-2-carboxaldéhyde	
	1H-Pyrrole,2,3,4,5-tétraméthyl	
Composés cycliques oxygénés	2,5-furandicarboxaldéhyde	

Le profil des espèces azotées (quinolines, indoles, pyrazines, pyrroles, caprolactame) en Figure V-14 et oxygénées (cyclopentanedione, γ -butyrolactone, 2,5-furandicarboxaldéhyde, phénol) en Figure V-19, a permis d'étudier les conditions favorables à leur formation pour *C. sorokiniana* (2020RAFCS4) et *C. vulgaris* (2021RAFV2), deux algues de composition différente. La principale différence étant la proportion en carbohydrates, 4 fois plus importante chez *C. sorokiniana* que chez *C. vulgaris* et inversement la proportion en lipides 2 fois plus faible chez *C. sorokiniana* que chez *C. vulgaris*.

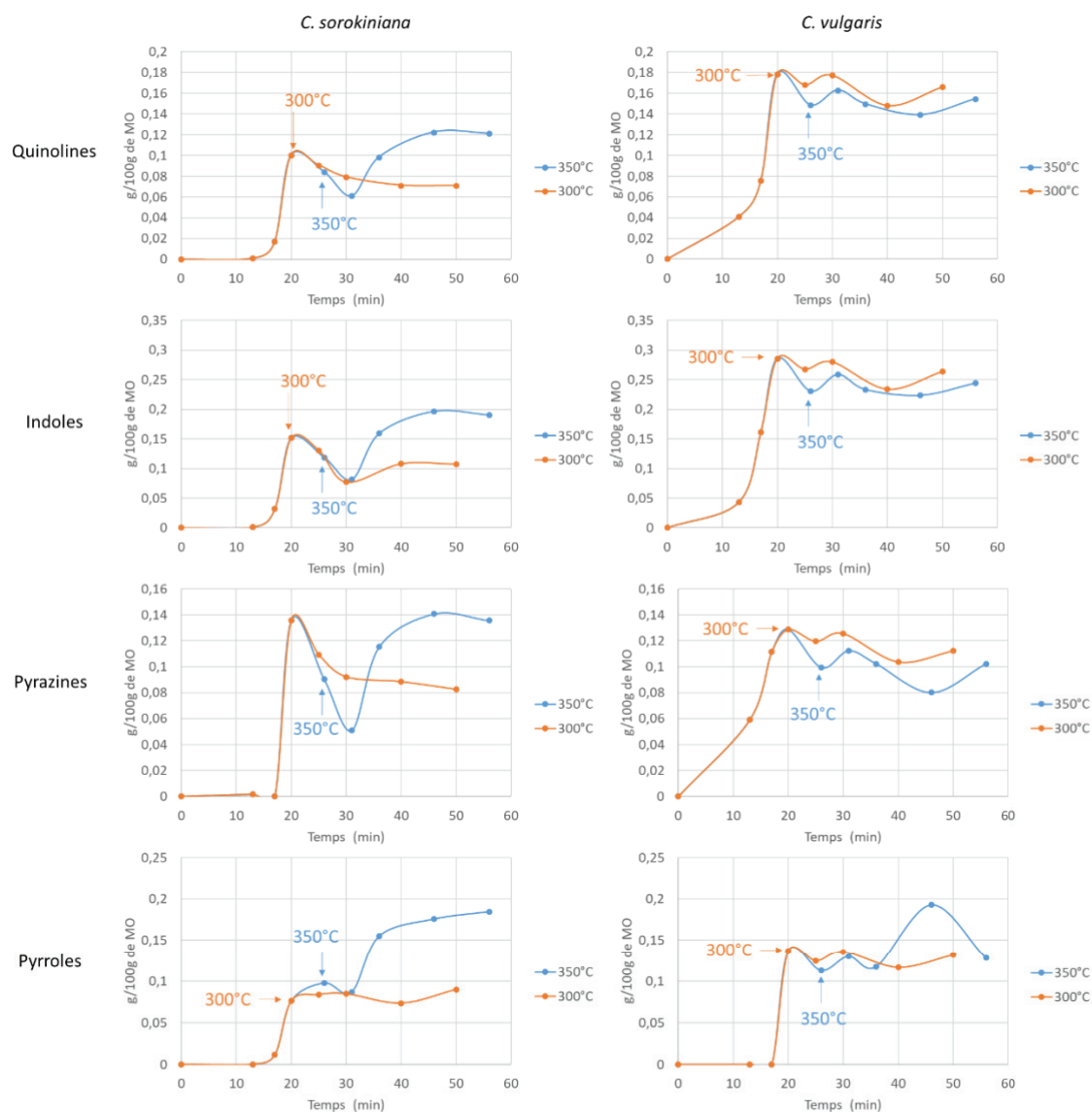


Figure V-14: profil des espèces azotées pour *C. sorokiniana* (à gauche) et *C. vulgaris* (à droite) à 300 et 350 °C (indication quand le palier est atteint)

On remarque le même comportement pour les quinolines et les indoles que ce soit pour *C. sorokiniana* ou pour *C. vulgaris*. De plus, ces familles de molécules sont similaires en termes de structure chimique, on peut donc déduire qu'elle vienne de la même voie réactionnelle. La principale différence observée est la quantité formée, environ 2 fois plus élevée chez *C. vulgaris* que chez *C. sorokiniana*. Cela peut donc être relié à la quantité deux fois plus élevée en lipides chez *C. vulgaris*. Par conséquent, selon le schéma réactionnel, leur voie réactionnelle viendrait de la cyclisation et aromatisation des amides issus de la réaction des acides gras avec des amines.

Cependant, si on observe le profil des amides dans les deux cas (Figure V-15), ils sont formés à partir de 300 °C, donc après les quinolines et indoles, ce qui n'est pas cohérent avec la première hypothèse. On peut donc émettre une deuxième hypothèse selon laquelle ces

molécules sont formées suite à l'aromatization des acides carboxyliques et en présence d'ammonium.

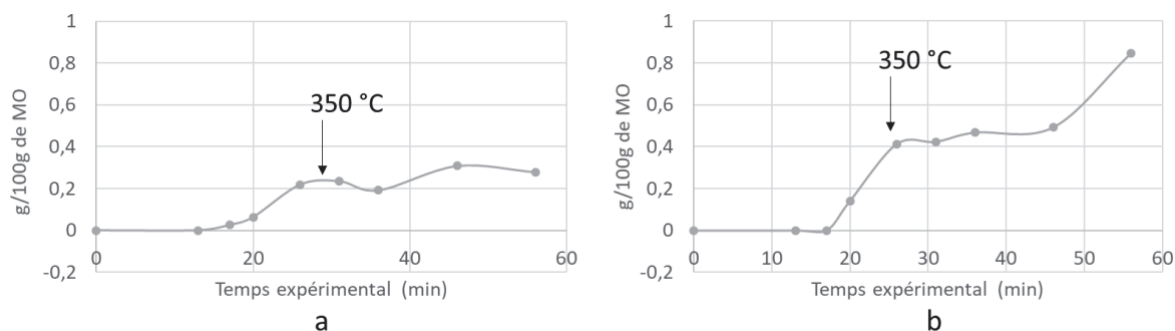


Figure V-15 : Profil des amides chez *C. sorokiniana* (a) et *C. vulgaris* (b) à 350 °C (indication quand le palier est atteint)

Dans le cas des pyrazines, il n'y a pas de différences au niveau de la quantité formée. Ces molécules azotées sont principalement formées par les réactions de Maillard et la quantité de protéines étant équivalente pour les deux espèces, on se retrouve finalement avec la même quantité de pyrazines. Cela montre également que la quantité de pyrazines formée n'est pas reliée au ratio carbohydrates/protéines, bien plus élevé chez *C. sorokiniana*.

Pour les pyrroles, on observe que dans le cas de *C. sorokiniana*, leur formation n'est pas terminée à 350 °C au bout de 30 min et dans le cas de *C. vulgaris*, la quantité diminue au bout de 20 min à 350 °C, ce qui peut faire penser à des réactions de condensation.

De manière globale, on remarque que les conditions qui minimisent la formation de composés azotés sont une température de 350 °C et 5 min de réaction, notamment pour *C. sorokiniana*. On peut penser que les composés condensent, s'accumulent dans la partie solide et qu'au bout de 5 min, la phase sature, ce qui provoque l'accumulation des molécules dans l'huile. Dans le cas de *C. vulgaris*, on atteint également un minimum de formation des composés azotés à 350 °C mais au bout de 20 min de réaction. En comparant les deux espèces, on observe aussi que la formation des composés azotés chez *C. vulgaris* est plus rapide (apparition des premières molécules à 200 °C) et se stabilise à une valeur élevée.

Le profil du caprolactame et de l'ammonium en phase aqueuse a été réalisé sur *C. sorokiniana* afin de comprendre la dégradation des acides aminés par désamination, ils sont représentés en Figure V-16 et Figure V-17, respectivement. On remarque que la dégradation des acides aminés par désamination est plus lente que la cyclisation ou que la formation de produits de Maillard. On observe également ce phénomène de chute de concentration à 350 °C mais au bout de 10 min cette fois-ci. On peut donc supposer que les réactions de cyclisation et réaction de Maillard ont lieu dans un premier temps, se condensent jusqu'à un minimum pendant que les acides aminés se décomposent et atteignent un maximum (aussi observé en

Figure V-17 pour l'ammonium) pour finalement se condenser également en phase solide et s'accumuler en phase aqueuse après saturation. Finalement, on observe un minimum en concentration à une température de 300 °C et 10 min de réaction.

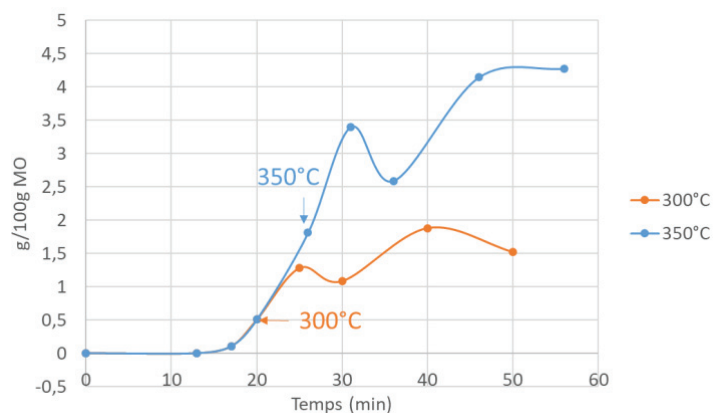


Figure V-16 : Profil du caprolactame en phase aqueuse d'HTL de *C. sorokiniana*

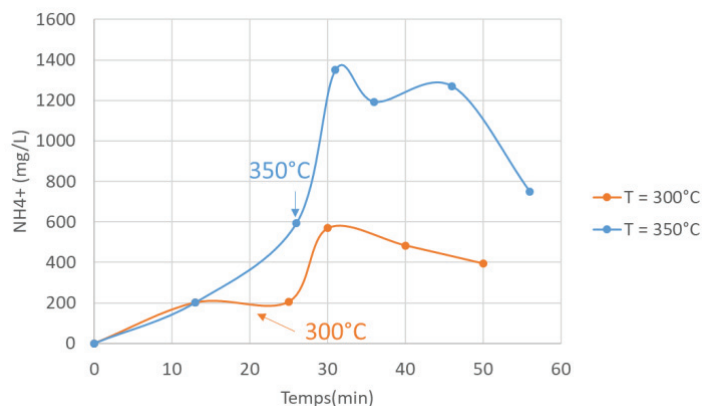


Figure V-17 : Profil de l'ammonium en phase aqueuse d'HTL de *C. sorokiniana*

Globalement, dans le cas des molécules oxygénées, on observe le même comportement que pour les molécules azotées (Figure V-18 et Figure V-19), soit un minimum de formation à 350 °C et 5 min. On observe également que le furan-2,5-dicarboxaldéhyde et le cyclopentanedione ne se forment pas chez *C. vulgaris*. L'apparition de ces molécules est donc bien reliée à la dégradation des carbohydrates, plus présents chez *C. sorokiniana*.

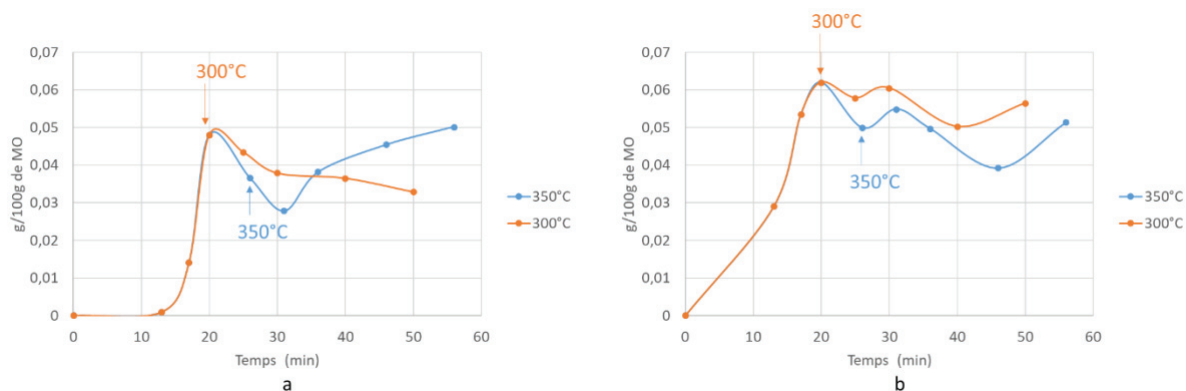


Figure V-18 : Profil du γ -butyrolactone pour *C. sorokiniana* (a) et pour *C. vulgaris* (b)

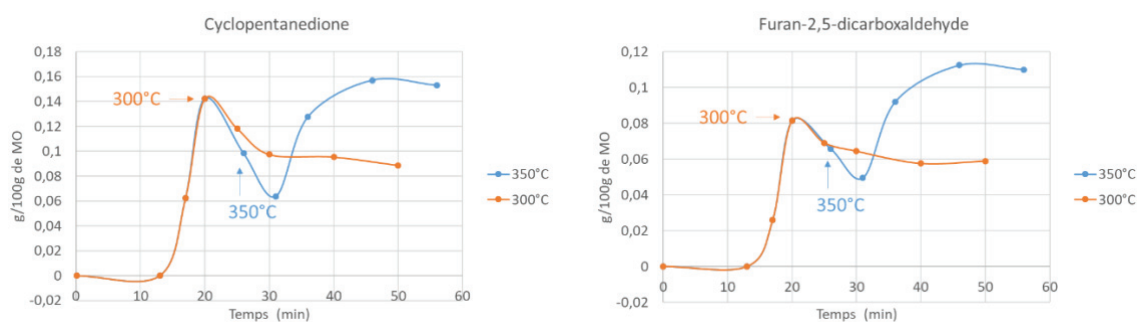


Figure V-19 : Profil des espèces oxygénés pour *C. sorokiniana*

Le phénol a également été suivi au cours du temps dans la phase aqueuse d'HTL de *C. sorokiniana*. Sa formation se comporte de manière similaire au caprolactame, on peut donc penser que le phénol est issu de la dégradation de la tyrosine. Le phénol peut également être dû à la dégradation des carbohydrates (voir Chapitre I4.3) mais aucun autre profil ne nous permet de confirmer cette voie. La principale différence est visible à 300 °C où on remarque que la concentration augmente toujours après 30 min de réaction et que quel que soit le temps de séjour la concentration en phénol est moins importante à cette température qu'à 350 °C. Dans ce cas, le minimum de formation est à 300 °C au bout de 10 min de réaction. Ce qui n'est pas le cas des autres composés oxygénés.

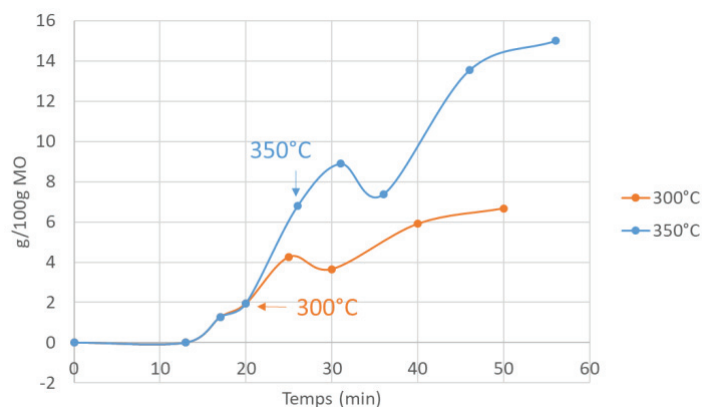


Figure V-20 : Profil du phénol en phase aqueuse d'HTL de *C. sorokiniana*

5. Conclusion

La modélisation cinétique proposée dans ce chapitre représente bien la dégradation de la biomasse en conditions de liquéfaction hydrothermale, cela a été confirmé par les profils de molécules obtenus. De plus, des améliorations ont été apportées par rapport aux anciens travaux réalisés sur ce modèle cinétique. Cependant, celui-ci ne permet pas de prédire la qualité de la bio-huile. Une première approche a donc été d'observer les profils prédits par le modèle cinétique pour valider le schéma réactionnel. En effet, si les profils des différentes familles de molécules correspondent aux observations faites dans les précédents chapitres, le schéma réactionnel pourra servir de base à une étude plus détaillée.

Afin d'approfondir cet aspect, le suivi de formation de certaines molécules azotées et oxygénées dans la bio-huile a été fait au cours du temps et de la température. Cela a permis de conclure sur les conditions d'HTL à appliquer pour limiter leur formation dans la bio-huile. Une température de 350 °C et un temps de séjour de 5 min semble optimal pour minimiser la formation des composés azotés et oxygénés dans la bio-huile. De plus, la majorité des composés sont formés entre 200 et 300 °C, pendant la rampe de température. Le profil d'autres espèces sera nécessaire pour intégrer les données dans un modèle cinétique plus détaillé. Cependant, il reste quelques verrous quant à l'analyse et à la quantification des molécules en phase aqueuse.

Finalement, cette étude a permis de comprendre d'avantage les limites aux modélisations cinétiques actuelles et d'émettre des hypothèses sur les voies réactionnelles impliquées lors de la formation des composés azotés et oxygénés. Le but étant d'intégrer ces voies dans un modèle cinétique permettant de prédire la composition de la bio-huile.

Références

- [1] D.C. Hietala, P.E. Savage, A molecular, elemental, and multiphase kinetic model for the hydrothermal liquefaction of microalgae, *CHEM ENG J (LAUSANNE)*. 407 (2021) 127007. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127007>.
- [2] P.J. Valdez, V.J. Tocco, P.E. Savage, A general kinetic model for the hydrothermal liquefaction of microalgae, *Bioresource Technology*. 163 (2014) 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.013>.
- [3] S. Valdez, A reaction network for the hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp., *Algal Research*. 2 (2013) 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.08.002>.
- [4] D.C. Hietala, J.L. Faeth, P.E. Savage, A quantitative kinetic model for the fast and isothermal hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp., *Bioresource Technology*. 214 (2016) 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.067>.
- [5] T.K. Vo, S.-S. Kim, H.V. Ly, E.Y. Lee, C.-G. Lee, J. Kim, A general reaction network and kinetic model of the hydrothermal liquefaction of microalgae *Tetraselmis* sp., *Bioresource Technology*. 241 (2017) 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.186>.
- [6] J. Yang, Q. (Sophia) He, H. Niu, K. Corscadden, T. Astatkie, Hydrothermal liquefaction of biomass model components for product yield prediction and reaction pathways exploration, *Applied Energy*. 228 (2018) 1618–1628. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.06.142>.
- [7] M. Déniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Hydrothermal liquefaction of blackcurrant pomace and model molecules: understanding of reaction mechanisms, *Sustainable Energy Fuels*. 1 (2017) 555–582. <https://doi.org/10.1039/C6SE00065G>.
- [8] W. Yang, Z. Wang, J. Han, S. Song, Y. Zhang, W. Gong, The role of polysaccharides and proteins in bio-oil production during the hydrothermal liquefaction of algae species, *RSC Advances*. 9 (2019) 41962–41969. <https://doi.org/10.1039/c9ra07150d>.
- [9] J. Jiang, P.E. Savage, Using Solvents to Reduce the Metal Content in Crude Bio-oil from Hydrothermal Liquefaction of Microalgae, *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 58 (2019) 22488–22496. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b03497>.
- [10] M. Deniel, G. Haarlemmer, A. Roubaud, E. Weiss-Hortala, J. Fages, Energy valorisation of food processing residues and model compounds by hydrothermal liquefaction, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 54 (2016) 1632–1652. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.017>.
- [11] S.M. Changi, J.L. Faeth, N. Mo, P.E. Savage, Hydrothermal Reactions of Biomolecules Relevant for Microalgae Liquefaction, *Ind. Eng. Chem. Res.* 54 (2015) 11733–11758. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b02771>.
- [12] M. Briand, Conception et évaluation d'un procédé de liquéfaction hydrothermale en vue de la valorisation énergétique de résidus agroalimentaires, Thèse de doctorat, Lyon, 2021. <http://www.theses.fr/2021LYSE1027> (accessed July 27, 2022).
- [13] M. Jin, Y.-K. Oh, Y.K. Chang, M. Choi, Optimum Utilization of Biochemical Components in *Chlorella* sp. KR1 via Subcritical Hydrothermal Liquefaction, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5 (2017) 7240–7248. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b01473>.
- [14] J.D. Sheehan, P.E. Savage, Molecular and Lumped Products from Hydrothermal Liquefaction of Bovine Serum Albumin, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5 (2017) 10967–10975. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02854>.
- [15] J.D. Sheehan, P.E. Savage, Modeling the effects of microalga biochemical content on the kinetics and biocrude yields from hydrothermal liquefaction, *Bioresource Technology*. 239 (2017) 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.013>.

Conclusion

La transition écologique, menée actuellement dans de nombreux domaines, touche particulièrement le secteur énergétique. La gestion des réserves fossiles, l'utilisation de procédés et de ressources respectueuses de l'environnement et la mise en place de nouvelles habitudes de consommation sont les points clés pour répondre aux enjeux actuels. La production d'énergie à partir de biomasse fait partie des solutions envisagées pour limiter l'utilisation de ressources fossiles. Le concept de cycle du carbone s'intègre également à cette démarche. L'idée étant de créer un cycle fermé en utilisant le carbone capté par les plantes (sous forme de CO₂) et transformé pour la production de biocarburants.

Dans ce contexte, les micro-algues font partie des ressources les plus intéressantes. Elles sont capables de capter le CO₂ de l'air et leur composition, flexible selon les conditions de culture, est favorable à la fois pour la production de bioéthanol dans le cas d'algues riches en carbohydrates et pour la production de biodiesel ou de jet fuel dans le cas d'algues riches en lipides. Ce travail de thèse s'est plus particulièrement intéressé à la production de carburants similaires au biodiesel. Dans ce cadre, les premières recherches se sont intéressées à la valorisation des lipides et notamment à l'extraction et à la transestérification des acides gras afin d'obtenir des esters d'acides gras, riches en carbones et à fort potentiel énergétique. Cependant, cette méthode ne prend pas en compte la biomasse dans son intégralité, implique d'autres voies de valorisation pour le reste de la biomasse et nécessite une étape de séchage coûteuse en énergie. Des voies thermo-chimiques, comme la liquéfaction hydrothermale, se sont alors développées.

La liquéfaction hydrothermale est un procédé thermo-chimique traitant une biomasse diluée dans l'eau (à hauteur de 30 %) en conditions sous-critiques, soit à une température d'environ 300 °C, une pression de 100 bars et pendant une durée allant de 5 à 60 min. En sortie, trois produits sont obtenus après extraction : une bio-huile à fort contenu énergétique, une phase aqueuse et une phase solide aussi appelée char. La bio-huile, étant le produit d'intérêt, est ensuite raffinée afin d'éliminer les molécules néfastes à son utilisation en tant que biocarburant, comme les molécules azotées ou oxygénées. Cependant, le développement de ce procédé à échelle industrielle est encore limité par de nombreux verrous liés aux aspects technologiques mais aussi par le manque de compréhension du procédé d'un point de vue réactionnel. Ce dernier point complexifie l'étape de modélisation nécessaire à la prédiction des rendements en bio-huile et limite la montée en échelle.

L'objectif de cette étude était d'élargir les connaissances liées à la transformation des micro-algues, et plus particulièrement des espèces *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*, en conditions de liquéfaction hydrothermale. La compréhension de la réactivité et du lien entre la biomasse et les produits obtenus était le cœur du travail. Pour cela, deux espèces de micro-algues

cultivées dans différentes conditions, ont été étudiées : *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris*, ce qui a permis d'étudier différentes compositions de micro-algues et d'avoir une vision sur le comportement de ces deux espèces en conditions de liquéfaction hydrothermale. De plus, ce travail s'est inscrit dans le projet RAFBIOALG, ce qui a permis d'avoir une vision globale du procédé, de la culture des micro-algues au procédé de transformation en bio-huile, jusqu'aux tests d'évaluation de performance énergétique.

Le chapitre I a donné un aperçu de l'état de l'art sur ce sujet, notamment en regroupant les mécanismes réactionnels de transformation de la biomasse évoqués dans la littérature et **le chapitre II** était dédié à la composition des lots de micro-algues utilisés, aux installations expérimentales, aux méthodes analytiques et aux outils de modélisation impliqués dans le traitement des résultats.

Le chapitre III, consacré aux premiers résultats, s'est intéressé à l'effet de la composition de la biomasse et des paramètres de la liquéfaction hydrothermale sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote. Quatre lots de micro-algues de composition différente ont été étudiés, ce qui a permis dans un premier temps de mettre en évidence le lien étroit entre la composition de la biomasse et les produits obtenus et de montrer plus précisément que :

- Un lot de micro-algue riche en lipides, tel que 2021RAFCV2 (*C. vulgaris*), permet de doubler les rendements massiques en bio-huile et d'atteindre environ 60 % de rendement par rapport aux lots riches en carbohydrates.
- Une biomasse riche en lipides est principalement décomposée par des réactions de décarboxylation contrairement aux biomasses riches en carbohydrates et en protéines, décomposées principalement par des réactions de désamination.
- Pour un lot riche en lipides, le taux d'azote provenant de la formation d'amides dans l'huile est fortement influencé par les conditions opératoires.
- Pour un lot riche en carbohydrates, les conditions opératoires ont peu d'influence sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote dans la bio-huile.

L'étude s'est ensuite focalisée sur deux lots de micro-algues. Un lot riche en protéines (2020RAFCS1) et un riche en lipides (2021RAFCV2) afin d'étudier l'effet des paramètres opératoires sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote. Cela a permis de conclure sur les points suivants :

- Pour le lot riche en protéines, il existe une interaction négative entre le temps de séjour et la température sur le rendement en bio-huile et le rendement le plus élevé (~55 %) est atteint à 350 °C et 5 min pour un taux de MO de 17 %.

- Pour le lot riche en lipides, les conditions favorisant un haut rendement sont 300 °C et 10 min de réaction à un taux de MO de 10 %.
- Dans le cas du lot riche en protéines, l'augmentation de la température et du temps de séjour favorise la formation de char et dans le cas du lot riche en lipides, la formation d'amides dans l'huile et d'acides ou alcènes à chaîne courte en phase aqueuse est favorisé.

Ces observations ont été appliquées au pilote continu, ce qui a permis de voir que :

- La formation de composés de Maillard et d'amides est plus visible en batch qu'en continu, ce qui est dû au contact prolongé entre la phase aqueuse et la bio-huile dans le cas du batch.
- Le traitement par HTL en continu de *C. vulgaris* permet d'atteindre un rendement deux fois plus élevé que celui de *C. sorokiniana*.
- Pour *C. vulgaris*, une hausse de température de 300 °C à 340 °C permet d'augmenter le rendement en bio-huile de 45,5 % à 48 % et de diminuer le taux d'azote de 2,45 à 1,43 %.

La dernière partie de ce chapitre était dédiée à la modélisation par régression linéaire et par *machine learning* et conclut sur le fait que :

- La régression linéaire est un outil simple d'utilisation et permet d'atteindre un coefficient de corrélation de 0,77 et 0,68 pour la prédiction du rendement en bio-huile et du taux d'azote, respectivement.
- L'*eXtreme Gradient Boosting* nécessite un grand jeu de données mais modélise les données avec un coefficient de corrélation égal à 0,95.
- Dans les deux types de modélisation, on augmente la précision en ciblant une ressource.

Le chapitre IV s'est ensuite focalisé sur l'analyse de la bio-huile et de la phase aqueuse après HTL afin d'avoir une meilleure compréhension du schéma réactionnel de transformation de la biomasse algale. Les points suivants ont été mis en avant :

- Il existe une voie spécifique de dégradation pour chaque famille d'acide aminé en conditions d'HTL.
- Les acides aminés et les pigments sont les principaux précurseurs de molécules azotées dans les micro-algues.
- Les caractérisations par GC-MS et GC*GC-MS sont complémentaires et permettent d'analyser la fraction légère de la bio-huile.

- Un pré-traitement de la phase aqueuse par extraction puis lyophilisation de la fraction non miscible dans le solvant permet la caractérisation de l'échantillon par GC-MS.

Finalement, à la fin du chapitre IV, un schéma réactionnel complet adapté à *C. sorokiniana* et à *C. vulgaris* a été proposé, ce qui a permis de travailler sur l'élaboration d'un modèle cinétique. **Le chapitre V** est consacré à cette partie, il a permis de développer un modèle cinétique avec un schéma réactionnel adapté à la dégradation de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris* en conditions d'HTL. Les résultats obtenus ne permettent pas, à ce jour, d'améliorer la prédiction des rendements par rapport à la modélisation par régression linéaire ou par *machine learning* mais le modèle développé servira de base à l'élaboration d'un modèle cinétique plus précis permettant de prédire la composition de la bio-huile. Ce chapitre a donc permis de mettre en avant les limites actuellement rencontrées pour ce type de modélisation et notamment le fait que la complexité du schéma réactionnel doit être prise en compte pour améliorer la modélisation. Pour cela, la quantification de molécules cibles est nécessaire. Cette démarche a donc été commencée en réalisant le suivi de formation de certaines espèces azotées et oxygénées au cours du temps. Ces profils ont servi à émettre des hypothèses sur leur origine et sur les conditions à appliquer pour éviter leur formation. Globalement, les observations suivantes ont été faite :

- A 300 °C, on observe un optimum de formation de la plupart des composés azotés et oxygénés, une baisse puis à nouveau une augmentation après 5 min de temps de séjour à 350 °C.
- Une température de 350 °C et un temps de séjour de 5 min limite la formation des composés azotés et oxygénés, ce qui correspond aussi aux conditions optimales pour le rendement en bio-huile.
- La majorité des composés sont formés entre 200 et 300 °C, pendant la rampe de température, il est donc important de limiter ce paramètre pour les futurs suivis cinétiques des molécules (utilisation d'un micro-batch).

Perspectives :

Ce travail a été mené de manière à avoir dans un premier temps un aperçu global des conditions optimales à appliquer pour différentes compositions de micro-algues et des modélisations simple à utiliser dans le cadre d'une étude sur l'HTL de micro-algues. Dans un deuxième temps, une connaissance plus détaillée du lien entre la biomasse et les produits, en

passant par diverses méthodes analytiques. Et finalement, une application à un type de modélisation plus précis regroupant les différentes informations et prenant en compte la complexité du schéma réactionnel.

Le modèle cinétique présenté en chapitre 5 pourrait être amélioré en considérant la quantification de chaque famille de molécule et pas seulement la répartition de celle-ci dans les différentes phases. Cependant, cela nécessite la modification du schéma réactionnel dédié à l'étude cinétique et le développement de nouvelles méthodes analytiques pour considérer l'ensemble des composés. Quelques pistes de réflexion sont citées ci-dessous.


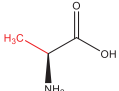
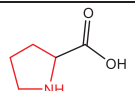
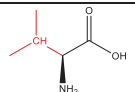
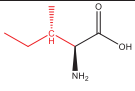
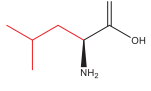
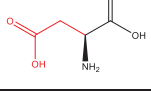
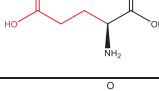
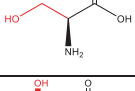
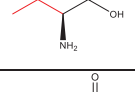
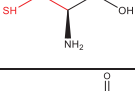
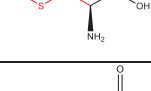
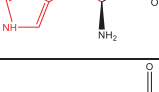


- Uniformiser la caractérisation de la biomasse entre toutes les études (dosage lipides, protéines, carbohydrates) pour pouvoir les inclure dans la modélisation et avoir d'avantages de données.
- Etablir un protocole de quantification des lipides et des pigments séparément pour pouvoir inclure la dégradation des pigments dans le modèle cinétique.
- Prendre en compte le solvant de manière détaillée dans la modélisation afin de guider la répartition des molécules dans les différentes phases.
- Développer une combinaison de méthodes analytiques permettant de caractériser la fraction lourde de la bio-huile.
- Développer une méthode de caractérisation de la phase aqueuse permettant de doser les composés.
- Prendre en compte l'évaporation des composés de la phase aqueuse et de la bio-huile lors de l'extraction et de l'évaporation du solvant dans le modèle cinétique.
- Différencier les voies de dégradation des familles d'acides aminés

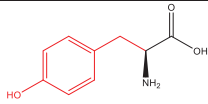
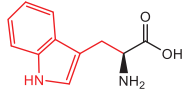
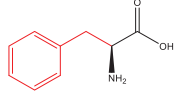
Les essais réalisés sur le pilote continu ont également permis d'observer le comportement des micro-algues, de mettre en évidence les limites de l'installation et d'envisager des améliorations au développement de cette technologie. Les principales problématiques rencontrées concernent l'usage des pompes, qui ne permettent pas d'atteindre des temps de séjour inférieurs à 15 min, et la séparation du char et de la bio-huile. Concernant cette dernière étape, le biocrude est actuellement récupéré sur des tamis lors de la séparation avec la phase aqueuse, ce qui nécessite une étape supplémentaire d'extraction de la bio-huile par solvant, non envisageable à échelle industrielle. Des techniques de filtration à chaud ont donc été envisagée afin de séparer la partie solide en amont du refroidissement et de séparer par décantation la bio-huile et la phase aqueuse. Ces tests devront être réalisés afin d'améliorer l'installation, bien que les derniers essais réalisés avec *C. vulgaris* aient écarté cette problématique grâce à la faible proportion de solide dans le biocrude.

Le développement de cette technologie semble donc être sur la bonne voie pour le traitement de micro-algues à grande échelle. Cependant, la composition de la biomasse n'est pas à négliger, autant d'un point de vue du rendement, de la qualité de la bio-huile et de la faisabilité du procédé à échelle industrielle. En effet, en s'affranchissant de la production de char avec une biomasse riche en lipides, l'étape de séparation est facilitée et on diminue l'impact économique et environnemental du procédé. De plus, les outils de *machine learning* ont montré un fort intérêt pour la modélisation. En réalisant d'autres essais de manière similaire sur les micro-algues, il serait donc possible d'avoir une base de données suffisante au sein du laboratoire afin de prédire le rendement en bio-huile issu d'HTL de micro-algues. Pour finir, le développement d'un modèle cinétique permettra de prédire l'aspect lié à la qualité de la bio-huile, c'est ce dernier point qui demandera le plus de développement dans le futur, notamment d'un point de vue analytique.

Chapitre VI : Annexes

Annexe 1 : Famille et structure des acides aminés

Famille	Nom	Structure
A.A. aliphatiques	Glycine	
	Alanine	
	Proline	
	Valine	
	Isoleucine	
	Leucine	
A.A. acides	Acide aspartique	
	Acide glutamique	
A.A. hydroxylés	Sérine	
	Thréonine	
A.A. soufrés	Cystine	
	Méthionine	
A.A. basiques	Histidine	
	Lysine	
	Arginine	

A.A. aromatiques	Tyrosine	
	Tryptophane	
	Phénylalanine	

Annexe 2-A : Analyse biochimique des lots de micro-algues

Tableau VI-1 : Détails sur les lots de *C. sorokiniana* (composition biochimique et incertitudes (SD), taux de matière sèche (%MS), taux de cendres (%MI), composition élémentaire)

Date de culture	Lot	MS (%)	MI (%)	Protéines (%)	Lipides (%)	SD (%)	Sucres totaux (%)	SD (%)	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
22/01/2020	2020RAFCS0	28,3	10	41,5	18,8	0,70	16,9	0,69	51	7,4	8,3	0,4	32,9
20/02/2020	2020RAFCS1	19,3	7,3	42,6	23,2	3,56	22,1	3,83	52,6	7,4	8,3	0,4	31,3
14/04/2020	2020RAFCS2	40,7	2,4	16,4	13,3	1,30	54,6	1,8	50,3	7,7	3,3	0,2	38,5
25/08/2020	2020RAFCS3	22,4	4,2	21,9	14	2	43	-	52,1	7,3	4,4	0,3	35,9
14/10/2020	2020RAFCS4	27,3	2,5	20,9	28,2	0,4	40,1	3,60	52,1	7,9	4,1	0,7	35,2

Tableau VI-2 : Détails sur les lots de *C. vulgaris* (composition biochimique et incertitudes (SD), taux de matière sèche (%MS), taux de cendres (%MI), composition élémentaire)

Date de culture	Lot	MS (%)	MI (%)	Protéines (%)	Lipides (%)	SD (%)	Sucres totaux (%)	SD (%)	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
22/03/2021	2021RAFCV1	27,5	3,3	11,8	36,8	2,45	29,2	0,16	64,3	8,1	2,4	0,3	24,9
06/06/2021	2021RAFCV2	31,8	2,8	17,4	53,2	0,95	10,7	0,44	58,3	6,9	3,5	0,3	31
15/06/2021	2021RAFCV3	33,6	3,3	12,5	37,3	0,08	33,4	1,20	64	10,9	2,5	0,4	22,2
28/07/2021	2021RAFCV4	9	5,5	34,4	2,01	0,32	34,1	1,23	48,1	7,6	6,9	0,6	36,8
27/08/2021	2021RAFCV5	26,2	5	18,2	24,5	0,59	30,3	1,01	54	8,1	3,6	0,4	33,9

Annexe 2-B : Mise au point du protocole de séparation des produits issus de l'HTL

En vue des différences de protocole observées dans la littérature, des tests pour mettre au point le protocole de séparation des produits (huile, phase aqueuse et char) ont été réalisés sur *Chlorella sorokiniana*. Tout d'abord, afin de limiter l'utilisation de solvant, indésirables à échelle industrielle, une séparation des phases par centrifugation a été testée. Un mélange de phase aqueuse et de biocrude (50/50 en volume) a été centrifugé à 10000 G pendant 10 min. Le même traitement a été effectué après avoir chauffé le mélange 5 min à l'étuve à 80 °C. Finalement, la centrifugation n'a pas permis de séparer les trois phases (solide, huile et phase aqueuse). D'autres perspectives permettant de s'affranchir de l'utilisation de solvants ont été évoquées, telle que la filtration du char à chaud avant séparation de l'huile et de la phase aqueuse, mais ce point, encore à l'étape de développement sur le pilote continu, n'est pas détaillé dans la thèse.

Une séparation du char et de l'huile par solvant après filtration est favorisée dans la plupart des études expérimentales, cependant le solvant utilisé n'est pas le même selon la ressource utilisée et l'objectif de l'expérience. Une étude sur le solvant d'extraction a donc été menée afin de choisir le plus efficace. Le but de cette extraction est analytique, il est donc important que l'on récupère un maximum de molécules et une quantité importante pour réaliser les analyses. La plupart des molécules théoriquement présentes dans l'huile étant apolaires, cinq solvants apolaires (les moins toxiques possible) ont été choisis : l'acétate d'éthyle (EtAc), le dichlorométhane (DCM), le tert-butyl méthyl éther (MTBE), le cumène et l'heptane. Pour comparaison, l'éthanol (EtOH) polaire a été également testé. L'extraction au cumène n'a pas abouti en vue du point d'ébullition trop élevé, l'évaporation à l'évaporateur rotatif n'a donc pas eu lieu. Ces tests nous ont permis de conclure que parmi ces 6 solvants le dichlorométhane est le solvant qui mène au rendement en bio-huile le plus important (47 %), c'est également le solvant qui extrait le plus de molécules carbonées et lourdes (Figure VI-1). Le choix s'est fait principalement par le fait que le DCM extrait une grande quantité et diversité de molécules, nécessaire à une étude analytique.

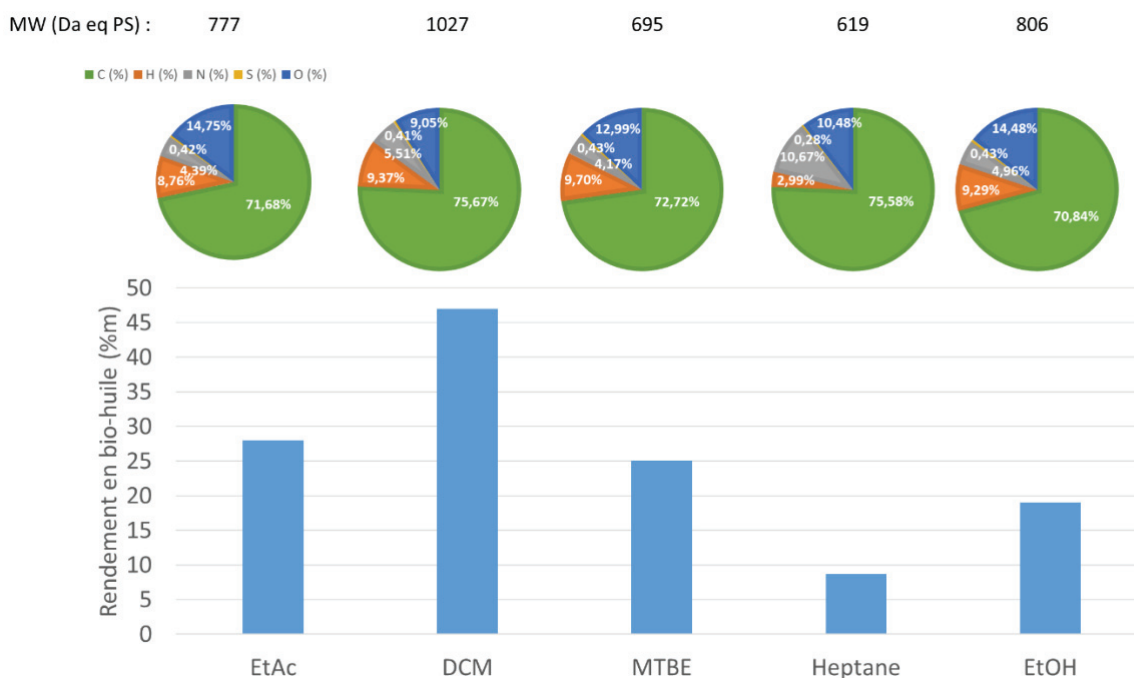


Figure VI-1 : Rendement en bio-huile (%), analyse élémentaire et masse moléculaire moyenne (M_w) en fonction du solvant d'extraction utilisé

Une autre problématique est le taux d'humidité variable dans le biocrude et la méthode de séchage utilisé. Actuellement, le biocrude est séché à l'air libre sous hotte. Cependant, cette méthode n'est pas contrôlée et reproductible, ce qui peut être problématique à échelle industrielle. La méthode de séchage par distillation azéotrope avec le toluène a été testée afin de palier à ce problème. Le protocole a été fixé et est efficace dans le cas d'une production à grande échelle car l'installation de distillation est adaptée à une quantité de biocrude de minimum 10 g. Finalement, à échelle batch, le séchage par distillation azéotrope n'est pas adapté à nos installations, nous avons choisi de déterminer chaque fois le taux d'humidité du biocrude et de le prendre en compte dans le calcul des rendements.

Annexe 2-C : Optimisation de la méthode d'analyse des bio-huiles par GC-MS

La bio-huile étant un mélange complexe, quatre programmes de température ont été testés (Figure VI-2) afin d'optimiser la séparation des pics. Le programme de base utilisé dans la thèse de Maxime Dénier [1] et Morgane Briand [2] pour analyser les bio-huiles était le suivant :

Méthode n° 1 :

45 °C (10 min) → rampe de 6 °C/min → 230 °C (9,17 min) → rampe de 10 °C/min → 250 °C (20 min)

Les méthodes suivantes (2, 3 et 4) ont ensuite été testées sur l'échantillon de bio-huile d'un essai réalisé à 300 °C et 30 min afin d'améliorer la séparation des pics. Globalement, le temps sur le palier initial a été réduit car peu de molécules sont éluées à 45 °C, la dernière rampe de température a été abaissée et le temps de palier à 250 °C augmenté. Diminuer la rampe de température a permis de mieux séparer les pics entre 30 et 60 min et l'augmentation du temps de palier jusqu'à 25 min à 250 °C a permis d'éluier en grande partie les composés les plus lourds. De plus, le palier à 230 °C a été abaissé à 180 °C afin de mieux séparer les pics entre 25 et 35 min.

Méthode n° 2 :

45 °C (5 min) → rampe de 6 °C/min → 180 °C (3 min) → rampe de 4 °C/min → 250 °C (5 min)

Méthode n° 3:

45 °C (3 min) → rampe de 5 °C/min → 180 °C (5 min) → rampe de 3 °C/min → 250 °C (15 min)

Méthode n° 4 :

45 °C (2 min) → rampe de 5 °C/min → 180 °C (5 min) → rampe de 2 °C/min → 250 °C (25 min)

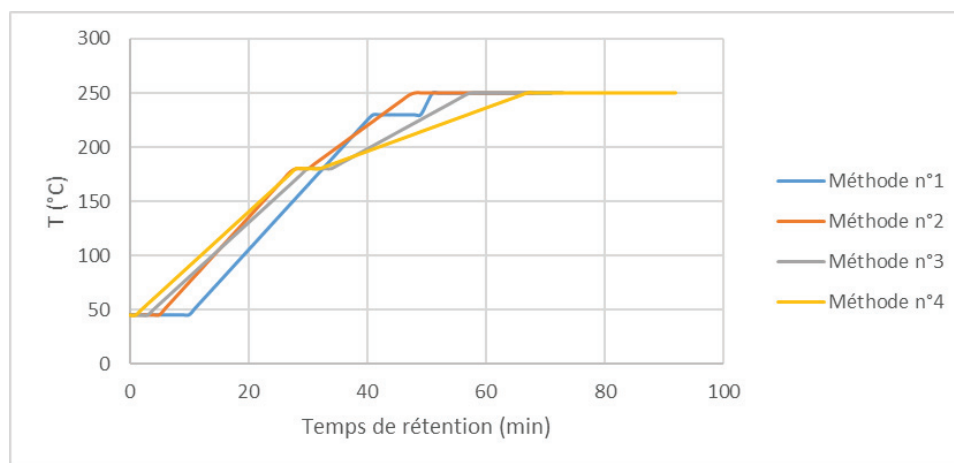
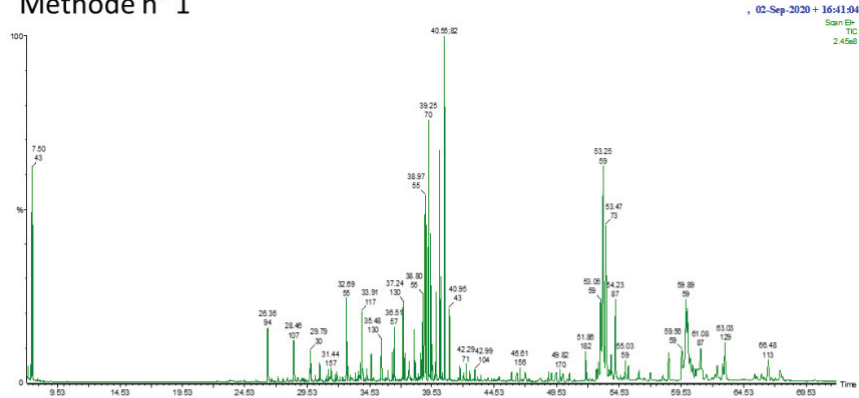
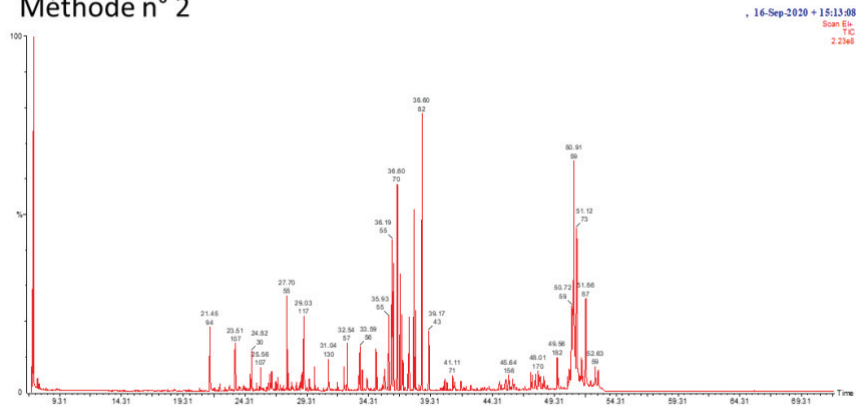


Figure VI-2 : Programme de température des méthodes 1, 2, 3 et 4

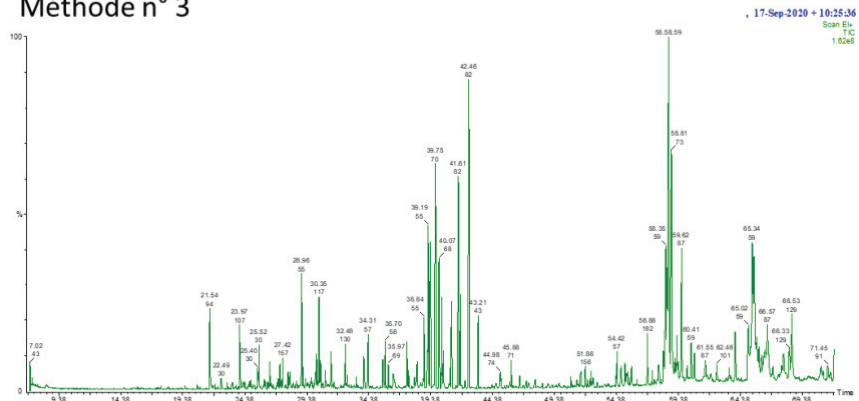
Méthode n° 1



Méthode n° 2



Méthode n° 3



Méthode n° 4

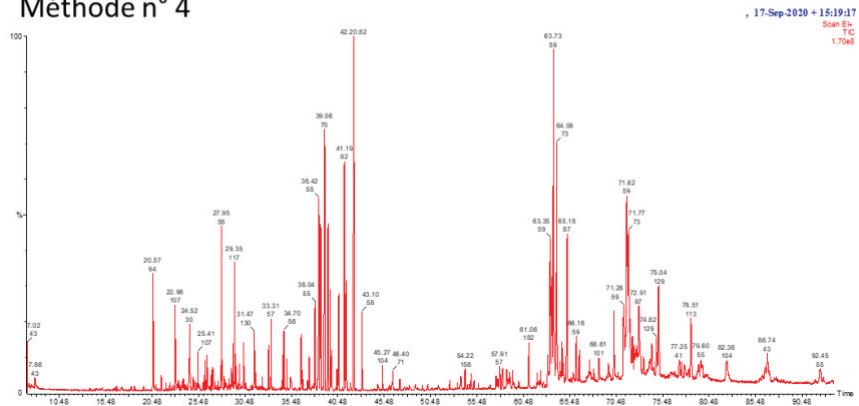


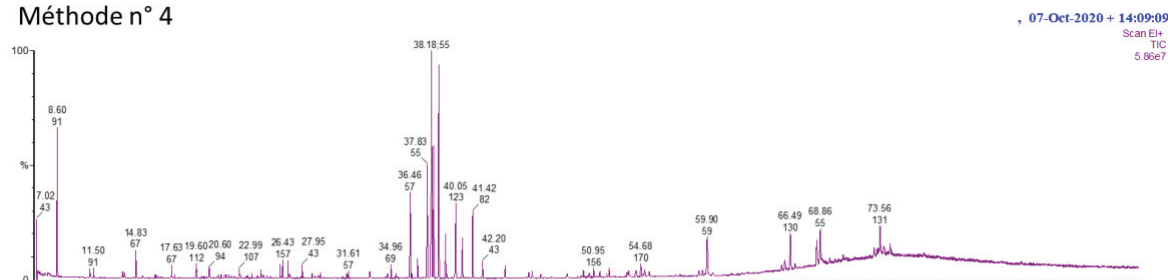
Figure VI-3 : Comparaison des chromatogrammes de bio-huiles avec les méthodes 1, 2, 3 et 4

Un programme incluant un nouveau palier de température a été testée sur l'échantillon RAF 11 (essai continu) afin de séparer d'avantage la fin du chromatogramme. Cependant, on observe en Figure VI-4 et Figure VI-5 que cela n'a pas été concluant.

Méthode n° 5 :

45 °C (2 min) → rampe de 5 °C/min → 180 °C (5 min) → rampe de 2 °C/min → 230 °C (10 min) → rampe de 3 °C/min → 270 °C (10 min)

Méthode n° 4



Méthode n° 5

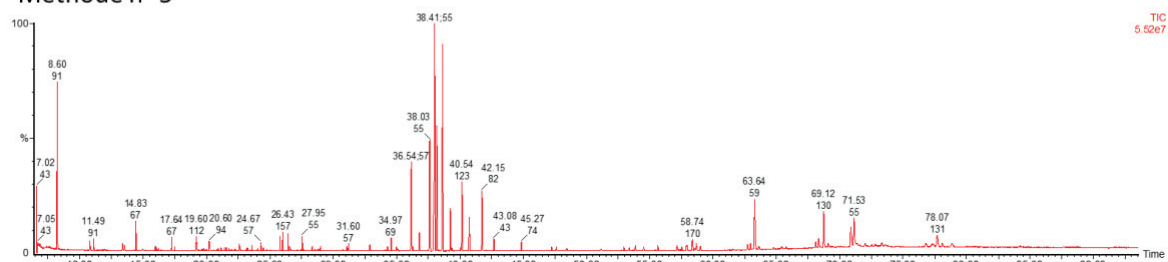
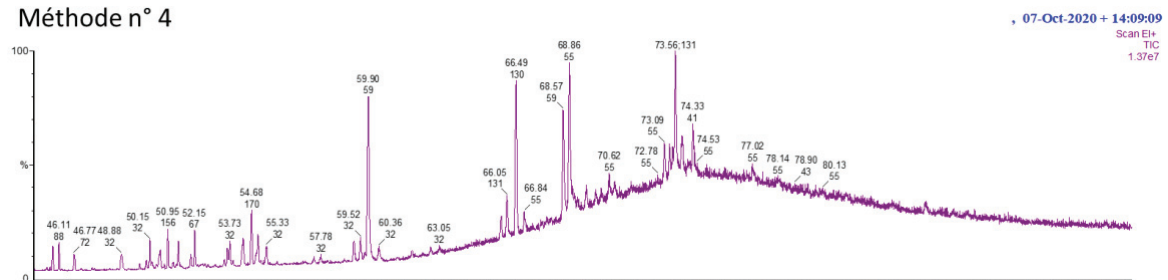


Figure VI-4 : comparaison de la méthode 4 et 5 (vue de tout le chromatogramme)

Méthode n° 4



Méthode n° 5

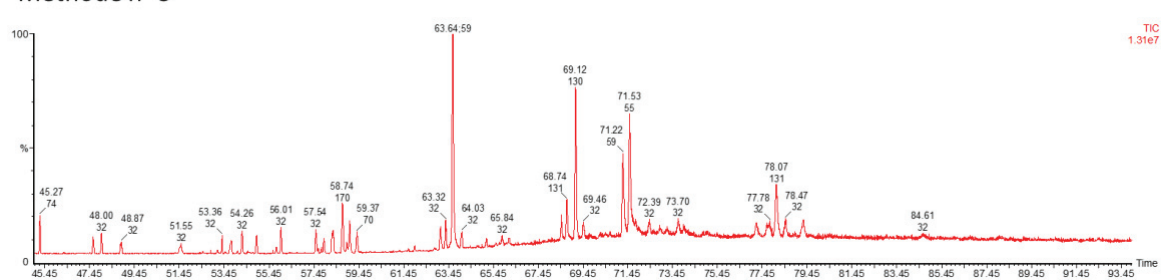


Figure VI-5 : Comparaison de la méthode 4 et 5 (zoom entre 45 et 93 min)

Annexe 2-D : Courbes d'étalonnage GC*GC-FID pour la quantification de composés dans la bio-huile

La Figure VI-6 regroupe les courbes d'étalonnages réalisées par GC*GC-FID.

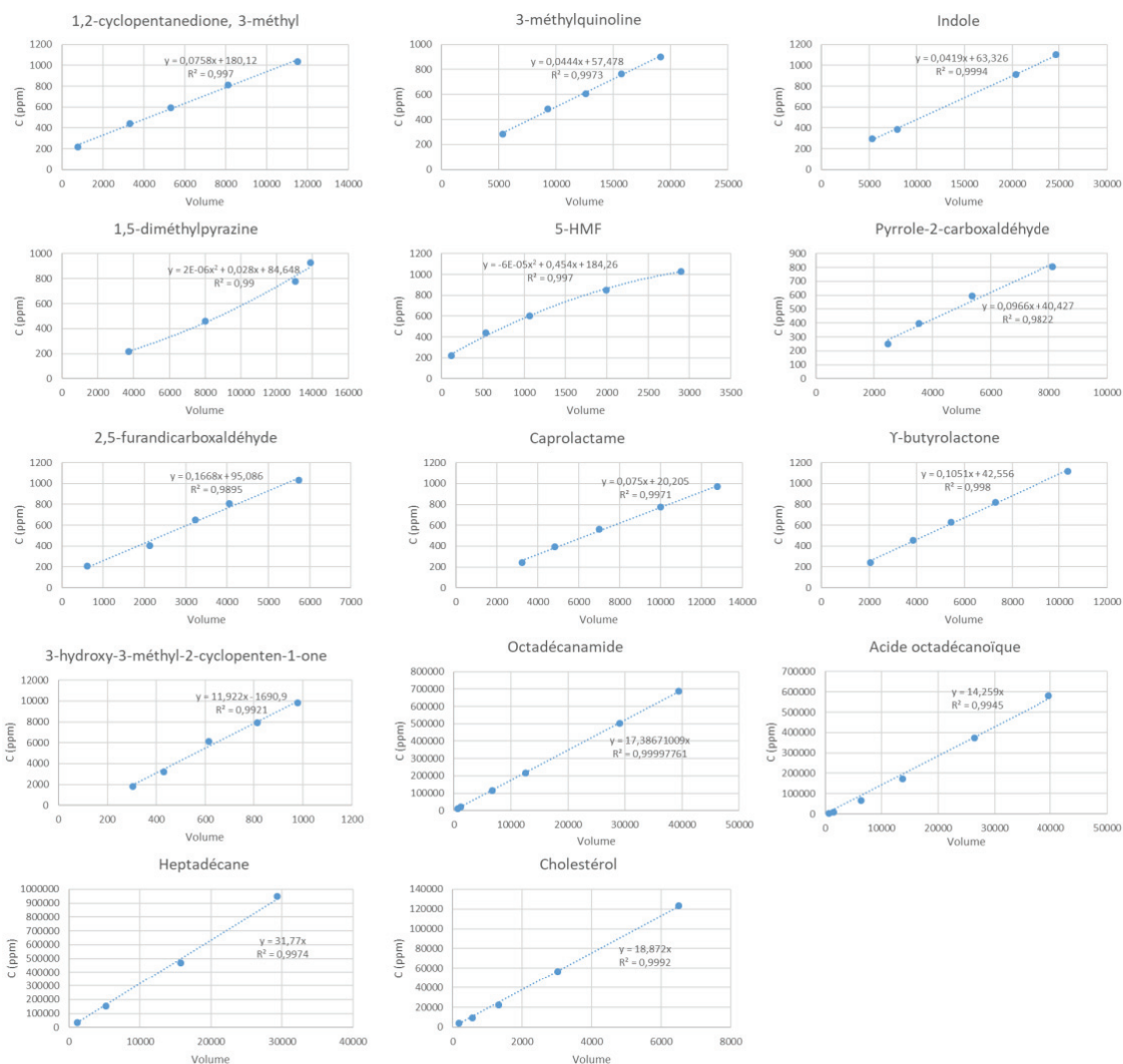


Figure VI-6 : Courbes d'étalonnage réalisées sur la GC*GC-FID pour la quantification de composés dans la bio-huile

Annexe 2-E : Courbe d'étalonnage GC-MS pour la quantification de composés dans la phase aqueuse

La Figure VI-7 regroupe les courbes d'étalonnages réalisées par GC-MS.

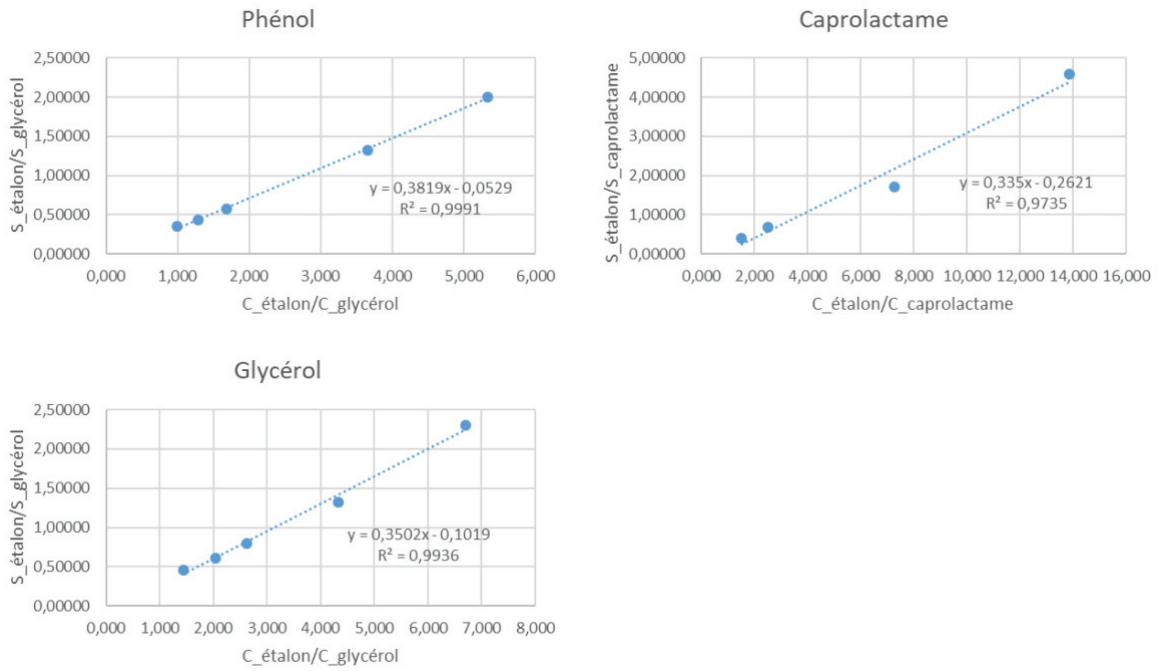


Figure VI-7 : Courbes d'étalonnage réalisées sur la GC-MS pour la quantification de composés en phase aqueuse

Annexe 2-F : Liste des molécules cibles basée sur les schémas réactionnels

Tableau VI-3 : Liste des molécules cibles (1/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Phytènes	Hexadécène,3,7,11,15-tétraméthyl-	Chlorophylle
Néophytadiènes	Hexadécène,7,11,15-triméthyl-3-méthylène-	Chlorophylle
Phytols	2-Hexadécèn-1-ol,3,7,11,15-tétraméthyl-	Chlorophylle
Isophytol	1-Hexadécèn-3-ol,3,7,11,15-tétraméthyl	Chlorophylle
Dihydrophytol	1-Hexadécanol,3,7,11,15-tétraméthyl	Chlorophylle
Phytone	2-pentadécane,6,10,14-triméthyl	Chlorophylle
Phytane	Hexadécane,2,6,10,14-tétraméthyl-	Chlorophylle
Pristène	Pentadécène,2,6,10,14-tétraméthyl-	Chlorophylle
Acide phytenique	Acide 3,7,11,15-tétraméthylhexadécénoïque	Chlorophylle
Pyrroles	-	Chlorophylle/Maillard
Acides gras	Acide palmitique (C16)	C16, C16 :1,C16 :2,C16 :3
	Acide palmitoléique (C16 :1)	C16 :1,C16 :2,C16 :3
	C16 :2	C16 :2,C16 :3
	C16 :3	C16 :3
	Acide stéarique (C18)	C18,C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Acide oléique (C18 :1)	C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Acide linoléique (C18 :2)	C18 :2,C18 :3
	Acide α -linoléique (C18 :3)	C18 :3
Aldéhydes et alcools	Acroléine	Triglycérides
	Acétaldéhyde	
	Formaldéhyde	
	Méthanol	
	Propionaldéhyde	
	Alcool allylique	
	Ethanol	

Tableau VI-4 : Liste des molécules cibles (2/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Esters	Palmitate d'éthyle	C16, C16 :1,C16 :2,C16 :3
	Palmitate de méthyle	C16, C16 :1,C16 :2,C16 :3
	Palmitoléate d'éthyle	C16 :1,C16 :2,C16 :3
	Palmitoléate de méthyle	C16 :1,C16 :2,C16 :3
	C16:2 éthyl ester	C16 :2,C16 :3
	C16:2méthyl ester	C16 :2,C16 :3
	C16:3 éthyl ester	C16 :3
	C16:3 méthyl ester	C16 :3
	Stéarate d'éthyle	C18,C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Stéarate de méthyle	C18,C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Oléate d'éthyle	C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Oléate de méthyle	C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Linoléate d'éthyle	C18 :2,C18 :3
	Linoléate de méthyle	C18 :2,C18 :3
	Linolénate d'éthyle	C18 :3
	Linolénate de méthyle	C18 :3
Alcanes ⁽¹⁾	Heptadécane	C18,C18 :1,C18 :2,C18 :3
	Pentadécane	C16, C16 :1,C16 :2,C16 :3
Alcanes ⁽²⁾	Ethanol	Sérine
	Ethylène	Sérine
	Ethane	Sérine/Alanine
	2-méthylbutane	Leucine
	Acide propanoïque	Acide aspartique
	Pentylamine	Lysine
	Ethylbenzène	Phénylalanine
	Acide butanoïque	Acide glutamique
Alcanes ⁽³⁾	Propane	Acide glutamique
	Ethane	Acide aspartique
Alcanes ⁽⁴⁾	Ethane	Acide aspartique
	Propane	Acide glutamique
Alcanes ⁽⁵⁾	Pentane	Lysine
	Pentène	Lysine
	2-pentène	Lysine
Dimères	Styrène dimère	Phénylalanine
	3-méthylbut-1-ène dimère	Leucine
	Alcool vinylique dimère	Sérine
	Pentanamine dimère	Lysine
	Ethylène dimère	Alanine/acide aspartique
	Propène dimère	Acide glutamique
DKP	Dicétopipérazine	Glycine
	3,6-diméthyl-pipérazine-2,5-dione	Alanine/acide aspartique
	3,6-bis(2-méthylpropyl)-pipérazine-2,5-dione	Leucine
	3,6-Diphényl-pipérazine-2,5-dione	Phénylalanine
	3,6-Diéthyl-pipérazine-2,5-dione	Acide glutamique

Tableau VI-5 : Liste des molécules cibles (3/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Diamines	Diisoamylamine	Leucine
	Diphénethylamine	Phénylalanine
	Diéthylamine	Sérine/Alanine/Acide aspartique
	Dipropylamine	Acide glutamique
	N1-(5-aminopentyl)-1,5-pentanediamine	Lysine
	N-(1-carboxyéthyl)alanine	Acide aspartique
	N-(2-carboxyéthyl)β-alanine	Acide aspartique
	Diéthanolamine	Sérine
	Ethenamine, N-ethenyl-	Sérine
	Diméthylamine	Glycine
	Acide 2,2'-iminobis butanoïque	Acide glutamique
	Acide 4,4'-Iminobis butanoïque	Acide glutamique
Amines ⁽¹⁾	Aminoéthanol	Sérine
	Méthylamine	Glycine
	Isoamylamine	Leucine
	1,5-pentanediamine	Lysine
	Éthylamine	Alanine
	Phényléthylamine	Phénylalanine
	Acide 2-amino butyrique	Acide glutamique
	Alanine	Acide aspartique
Amines ⁽²⁾	Vinylamine	Sérine
Amines ⁽³⁾	Ethylamine	Sérine
	Ethylène	Sérine
	Ethane	Sérine
Alcènes ⁽¹⁾	Heptadécène	C18 :1, C18 :2 ,C18 :3
	Heptadécadiène	C18 :2 ,C18 :3
	Heptadécatriène	C18 :3
	Pentadécène	C16 :1,C16 :2,C16 :3
	Pentadécadiène	C16 :2,C16 :3
	Pentadécatriène	C16 :3
Alcènes ⁽²⁾	Acide 3-hydroxy-2-propenoïque	Sérine
	Acide 4-méthyl-2-pentenoïque	Leucine
	Acide 6-amino-2-hexenoïque	Lysine
	Acide fumarique ou maléique	Acide aspartique
	Acide acrylique	Alanine
	Acide cinnamique	Phénylalanine
	Acide glutaconique	Acide glutamique
Alcènes ⁽³⁾	Alcool vinylique	Sérine
	4-pentèn-1-amine	Lysine
	Styrène	Phénylalanine
	Ethylène	Alanine
	3-méthylbut-1-ène	Leucine
	Acétaldéhyde	Sérine
	Acide acrylique	Acide aspartique
	Acide crotonique	Acide glutamique

Tableau VI-6 : Liste des molécules cibles (4/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Alcènes ⁽⁴⁾	Ethylène	Acide aspartique
	Propène	Acide glutamique
Alcènes ⁽⁵⁾	1,3-pentadiène	Lysine
Aldéhyde	Formaldéhyde	Sérine
Furanones	3-aminodihydro-5-hydroxy-2(3H)-furanone	Acide aspartique
	2-amino-2(3H)-furanone	Acide aspartique
Acides ⁽¹⁾	Acide glutarique	Acide glutamique
	Acide propanoïque	Alanine
	Acide succinique	Acide aspartique
	Acide 4-méthyl-2-pentanoïque	Leucine
	Acide 3-hydroxypropanoïque	Sérine
	Acide benzènepropanoïque	Phénylalanine
	Acide 6-aminohexanoïque	Lysine
Acides ⁽²⁾	Acide propanoïque	Acide aspartique
	Acide butanoïque	Acide glutamique
Acides ⁽³⁾	Acide acrylique	Sérine
Acides ⁽⁴⁾	Acide lactique	Sérine
	Acide acrylique	Sérine
	Acétaldéhyde	Sérine
	Acide propanoïque	Sérine
Acides ⁽⁵⁾	Acide lévulinique	Glucose
	Acide formique	Glucose
	Acétoacétaldéhyde	Glucose
	2,5-dioxo-3-hexenal	Glucose
	3,5-hexadienal-5-hydroxy-2-oxo	Glucose
	2,5,6-trihydroxy-2,4-hexadienal	Glucose
Acide ⁽⁶⁾	Acide propanoïque	Sérine
Acide ⁽⁷⁾	Acide lactique	Glucose
	Erythrose	Glucose
	Glycolaldéhyde	Glucose
	Glycéraldéhyde	Glucose
	Pyruvaldéhyde	Glucose
	Dihydroxyacétone	Glucose
Alcools ⁽¹⁾	Acide glycérique	Sérine
	Acide glycolique	Alanine
	Acide 3-hydroxy-4-méthylpentanoïque	Leucine
	Acide 2-hydroxy-3-phénylpropanoïque	Phénylalanine
	Acide 6-amino-5-hydroxyhexanoïque	Lysine
	Acide 3-hydroxyglutarique	Acide glutamique
	Acide malique	Acide aspartique

Tableau VI-7 : Liste des molécules cibles (5/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Alcools ⁽²⁾	Acide trihydroxyoctadécanoïque	C18 :3
	Acide dihydroxyoctadécanoïque	C18 :2
	Acide hydroxyoctadécanoïque	C18 :1
	Acide trihydroxyhexadécanoïque	C16 :3
	Acide dihydroxyhexadécanoïque	C16 :2
	Acide hydroxyhexadécanoïque	C16 :1
Alcools ⁽³⁾	Éthylène glycol	Sérine
	Phényléthanol	Phénylalanine
	acide 3-hydroxybutyrique	Acide glutamique
	3-methylbutanol	Leucine
	acide 3-hydroxypropionique	Acide aspartique
	5-amino-1-pentanol	Lysine
	Ethanol	Alanine
Alcools ⁽⁴⁾	Ethanol	Acide aspartique
	propan-2-ol	Acide glutamique
Alcools ⁽⁵⁾	3-penten-2-ol	Lysine
	2,4-pentanediol	Lysine
	1-penten-3-ol	Lysine
Aldéhydes et cétones	3-methyl-2-butanol	Leucine
	Ethanol	Alanine
	Ethylène glycol	Sérine
	Acide lactique	Acide aspartique
	Acide 3-hydroxybutyrique	Acide glutamique
	5-amino-1-pentanol	Lysine
	Phényléthanol	Phénylalanine
Pyrazines	-	Maillard
Oligomères	-	Chlorophylle
Indoles/indolizines	-	Maillard
Humines	-	Glucose
Composés cycliques oxygénés	5-HMF	Glucose
Imine	acide 2-iminopropanoïque	Sérine
Cyclopentenones/cyclopentanones	-	Glucose
Indènes	-	Glucose
Dérivés phénoliques	Benzene triol	Glucose
Naphtalènes	-	Glucose
Pyrrolidines et quinolones	Pyrrolidine, 1-(oxo-7-methyl-8-hexadecenyl)	Amides
Pyrrolidones	-	DKP
Amides	-	Acides + Amines

Tableau VI-8 : Liste de molécules cibles (6/6)

Famille	Molécules théoriques	Correspondance avec la biomasse de départ
Autres molécules seules	Glycérol	TAG
	Caprolactame	Lysine
	3-aminoazépanon-2-one	Lysine
	Butyrolactone	Acide glutamique
	Porphyries	Chlorophylle
	2-pyrrolidone	Acide aspartique/glutamique
	Succinimide	Acide aspartique
	Furfural	Glucose
	Phytostérols	Phytostérols

Annexe 3-A : Données expérimentales

Tableau VI-9 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (MO) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais du plan d'expérience n°1

Lot	REF	T (°C)	MO (%)	ts (min)	Y _{bio-huile} (%)	Y _{bio-huile} (%)	Y _{bio-huile} (%)	σ (%)	Y _{char} (%)	Y _{char} (%)	Y _{char} (%)	σ (%)	Y _{gaz} (%)	Y _{gaz} (%)	Y _{gaz} (%)	σ (%)	Y _{phaq} (%)	Y _{phaq} (%)	Y _{phaq} (%)	σ (%)	BM (%)	BC (%)		
2020RAFCS1	RAF 12	270	10	5	30,5	30,5	18,08	-	18,08	18,08	5,58	-	5,58	5,58	45,84	-	45,84	45,84	97,6	113,9				
	RAF 29	350	10	5	50,37	45,07	4,51	7,50	2,68	2,68	9,17	2,59	9,63	9,63	35,95	0,64	35,95	42,63	98,0	110,3				
	RAF 37				39,76	0,85	10,08	10,08	49,30															
	RAF 14	270	10	20	44,79	51,32	9,89	9,23	9,97	9,97	6,67	0,11	6,67	6,67	38,65	-	38,65	38,65	98,1	135,0				
	RAF 21				57,84	10,04	10,04																	
	RAF 13	270	17	5	33,78	38,87	24,60	7,19	19,50	19,50	-	7,22	5,95	5,95	-	-	35,70	35,70	96,2	99,7				
	RAF 23				43,95	14,39	14,39																	
	RAF 30	350	10	20	49,17	45,56	2,95	5,11	2,39	2,39	9,03	0,80	1,94	7,66	38,85	1,94	38,85	44,41	95,6	106,4				
	RAF 38				41,94	1,82	1,82																	
	RAF 31	350	17	5	56,77	58,34	3,68	2,22	4,43	4,43	-	1,06	9,15	9,15	25,76	-	25,76	25,76	-	-				
	RAF 39				59,91	5,18	5,18																	
	RAF 15	270	17	20	55,39	49,61	9,17	8,18	11,34	11,34	2,74	3,06	2,48	2,48	32,70	0,37	32,70	36,59	94,4	122,8				
	RAF 24				43,82	13,50	13,50																	
	RAF 40	350	17	20	47,21	47,21	10,80	-	10,80	10,80	17,15	-	17,15	17,15	24,83	-	24,83	24,83	95,0	-				
	RAF 19	270	10	5	29,03	28,12	15,28	1,29	16,78	16,78	4,40	2,12	1,47	3,36	51,29	1,47	51,29	51,74	98,4	81,8				
	RAF 25				27,21	18,28	18,28																	
RAF 33	350	10	5	31,10	31,27	6,22	0,23	5,76	5,76	8,98	0,65	1,70	7,78	53,70	1,70	53,70	55,20	97,9	73,9					
RAF 41				31,43	5,30	5,30																		
RAF 16	270	10	20	27,34	31,50	11,00	5,88	12,72	12,72	3,67	2,43	1,33	2,73	57,99	1,33	57,99	53,05	98,2	86,5					
RAF 26				35,66	14,44	14,44																		
RAF 45	270	17	5	29,82	32,93	17,78	4,39	18,75	18,75	-	1,36	5,41	5,41	47,74	-	47,74	43,29	95,6	81,2					
RAF 27				36,03	19,71	19,71																		
RAF 34	350	10	20	32,82	30,27	5,27	3,61	5,11	5,11	6,73	0,23	6,73	6,73	55,19	-	55,19	55,19	98,0	73,0					
RAF 42				27,72	4,94	4,94																		
RAF 35	350	17	5	23,29	30,49	20,90	10,18	13,25	13,25	8,40	10,82	0,05	8,44	47,41	0,05	47,41	47,83	97,0	77,8					
RAF 43				37,68	5,60	5,60																		
RAF 20	270	17	20	34,33	33,57	17,09	1,07	18,63	18,63	2,63	2,18	1,96	4,02	45,95	1,96	45,95	43,79	97,4	89,4					
RAF 28				32,81	20,17	20,17																		
RAF 36	350	17	20	39,58	34,59	9,94	7,06	9,42	9,42	9,42	0,74	8,21	41,78	1,71	41,78	48,14	97,2	72,7						
RAF 46				29,60	8,90	8,90																		

Tableau VI-10 : Rendement en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MO) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais en continu

Lot	REF	T (°C)	%MO	Temps de séjour (min)	Y _{bio-huile} (%)	Y _{char} (%)	Y _{gaz} (%)	Y _{phaq} (%)	BM (%)	BC (%)
2020RAFCS2	RAF 11	300	10	15	20,2	7,6	6,8	65,4	92,35	68,18
2020RAFCS2	RAF 17	300	10	15	20,3	5,8	9,3	64,6	99,88	79,79
2021RAFCV1	RAF 47	300	10	15	45,20	0,2	9,3	45,3	94,97	88,59
2021RAFCV3	RAF 55	340	10	15	47,7	0	5	47,3	94,77	75,8
2021RAFCV4	RAF 56	340	10	15	18,2	1,2	9	71,6	91,56	65,06
2021RAFCV5	RAF 57	340	10	15	47,4	0	11	41,6	99,43	102,5

Annexe 3-B : Références littérature *machine learning*

- Zou, S.; Wu, Y.; Yang, M.; Li, C.; Tong, J. Bio-Oil Production from Sub- and Supercritical Water Liquefaction of Microalgae *Dunaliella Tertiolecta* and Related Properties. *Energy Environ. Sci.* **2010**, *3* (8), 1073–1078. <https://doi.org/10.1039/C002550J>.
- Zhu, Z.; Rosendahl, L.; Toor, S. S.; Yu, D.; Chen, G. Hydrothermal Liquefaction of Barley Straw to Bio-Crude Oil: Effects of Reaction Temperature and Aqueous Phase Recirculation. *Applied Energy* **2015**, *137*, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.10.005>.
- Zhou, Y.; Schideman, L.; Yu, G.; Zhang, Y. A Synergistic Combination of Algal Wastewater Treatment and Hydrothermal Biofuel Production Maximized by Nutrient and Carbon Recycling. *Energy Environ. Sci.* **2013**, *6* (12), 3765–3779. <https://doi.org/10.1039/C3EE24241B>.
- Zhong, C.; Wei, X. A Comparative Experimental Study on the Liquefaction of Wood. *Energy* **2004**, *29* (11), 1731–1741. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2004.03.096>.
- Zhang, C.; Tang, X.; Sheng, L.; Yang, X. Enhancing the Performance of Co-Hydrothermal Liquefaction for Mixed Algae Strains by the Maillard Reaction. *Green Chem.* **2016**, *18* (8), 2542–2553. <https://doi.org/10.1039/C5GC02953H>.
- Yu, G.; Zhang, Y.; Schideman, L.; Funk, T.; Wang, Z. Distributions of Carbon and Nitrogen in the Products from Hydrothermal Liquefaction of Low-Lipid Microalgae. *Energy Environ. Sci.* **2011**, *4* (11), 4587–4595. <https://doi.org/10.1039/C1EE01541A>.
- Yang, L.; Nazari, L.; Yuan, Z.; Corscadden, K.; Xu, C. (Charles); He, Q. (Sophia). Hydrothermal Liquefaction of Spent Coffee Grounds in Water Medium for Bio-Oil Production. *Biomass and Bioenergy* **2016**, *86*, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.02.005>.
- Yang, L.; He, Q. (Sophia); Havard, P.; Corscadden, K.; Xu, C. (Charles); Wang, X. Co-Liquefaction of Spent Coffee Grounds and Lignocellulosic Feedstocks. *Bioresource Technology* **2017**, *237*, 108–121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.087>.
- Yang, L.; He, Q. (Sophia); Havard, P.; Corscadden, K.; Xu, C. (Charles); Wang, X. Co-Liquefaction of Spent Coffee Grounds and Lignocellulosic Feedstocks. *Bioresource Technology* **2017**, *237*, 108–121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.087>.
- Yang, J.; He, Q. S.; Niu, H.; Astatkie, T.; Corscadden, K.; Shi, R. Statistical Clarification of the Hydrothermal Co-Liquefaction Effect and Investigation on the Influence of Process Variables on the Co-Liquefaction Effect. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2020**, *59* (7), 2839–2848. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b06655>.
- Yang, J.; He, Q. S.; Niu, H.; Astatkie, T.; Corscadden, K.; Shi, R. Statistical Clarification of the Hydrothermal Co-Liquefaction Effect and Investigation on the Influence of Process Variables on the Co-Liquefaction Effect. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2020**, *59* (7), 2839–2848. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b06655>.
- Yang, C.; Wang, S.; Ren, M.; Li, Y.; Song, W. Hydrothermal Liquefaction of an Animal Carcass for Biocrude Oil. *Energy Fuels* **2019**, *33* (11), 11302–11309. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b03100>.
- Xu, D.; Savage, P. E. Effect of Temperature, Water Loading, and Ru/C Catalyst on Water-Insoluble and Water-Soluble Biocrude Fractions from Hydrothermal Liquefaction of Algae. *Bioresource Technology* **2017**, *239*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.127>.
- Xu, D.; Savage, P. E. Characterization of Biocrudes Recovered with and without Solvent after Hydrothermal Liquefaction of Algae. *Algal Research* **2014**, *6*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.08.007>.

Xiu, S.; Shahbazi, A.; Wallace, C. W.; Wang, L.; Cheng, D. Enhanced Bio-Oil Production from Swine Manure Co-Liquefaction with Crude Glycerol. *Energy Conversion and Management* **2011**, 52 (2), 1004–1009. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.028>.

Xiu, S.; Shahbazi, A.; Wallace, C. W.; Wang, L.; Cheng, D. Enhanced Bio-Oil Production from Swine Manure Co-Liquefaction with Crude Glycerol. *Energy Conversion and Management* **2011**, 52 (2), 1004–1009. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.028>.

Wikberg, H.; Ohra-aho, T.; Pileidis, F.; Titirici, M.-M. Structural and Morphological Changes in Kraft Lignin during Hydrothermal Carbonization. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2015**, 3 (11), 2737–2745. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00925>.

Watson, J.; Si, B.; Li, H.; Liu, Z.; Zhang, Y. Influence of Catalysts on Hydrogen Production from Wastewater Generated from the HTL of Human Feces via Catalytic Hydrothermal Gasification. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, 42 (32), 20503–20511. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.05.083>.

Wang, W.; Zhang, S.; Yu, Q.; Lin, Y.; Yang, N.; Han, W.; Zhang, J. Hydrothermal Liquefaction of High Protein Microalgae via Clay Material Catalysts. *RSC Adv.* **2017**, 7 (80), 50794–50801. <https://doi.org/10.1039/C7RA08311D>.

Wądrzyk, M.; Janus, R.; Vos, M. P.; Brillman, D. W. F. Effect of Process Conditions on Bio-Oil Obtained through Continuous Hydrothermal Liquefaction of *Scenedesmus* Sp. Microalgae. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2018**, 134, 415–426. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.07.008>.

Vo, T. K.; Lee, O. K.; Lee, E. Y.; Kim, C. H.; Seo, J.-W.; Kim, J.; Kim, S.-S. Kinetics Study of the Hydrothermal Liquefaction of the Microalga *Aurantiochytrium* Sp. KRS101. *Chemical Engineering Journal* **2016**, 306, 763–771. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.07.104>.

Vardon, D. R.; Sharma, B. K.; Scott, J.; Yu, G.; Wang, Z.; Schideman, L.; Zhang, Y.; Strathmann, T. J. Chemical Properties of Biocrude Oil from the Hydrothermal Liquefaction of *Spirulina* Algae, Swine Manure, and Digested Anaerobic Sludge. *Bioresource Technology* **2011**, 102 (17), 8295–8303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.041>.

Valdez, P. J.; Tocco, V. J.; Savage, P. E. A General Kinetic Model for the Hydrothermal Liquefaction of Microalgae. *Bioresource Technology* **2014**, 163, 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.013>.

Valdez, P. J.; Nelson, M. C.; Wang, H. Y.; Lin, X. N.; Savage, P. E. Hydrothermal Liquefaction of *Nannochloropsis* Sp.: Systematic Study of Process Variables and Analysis of the Product Fractions. *Biomass and Bioenergy* **2012**, 46, 317–331. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.08.009>.

Toor, S. S.; Shah, A. A.; Sharma, K.; Seehar, T. H.; Pedersen, T. H.; Rosendahl, L. A. Bio-Crude Production from Protein-Extracted Grass Residue through Hydrothermal Liquefaction. *Energies* **2022**, 15 (1), 364. <https://doi.org/10.3390/en15010364>.

Toor, S. S.; Reddy, H.; Deng, S.; Hoffmann, J.; Spangsmark, D.; Madsen, L. B.; Holm-Nielsen, J. B.; Rosendahl, L. A. Hydrothermal Liquefaction of *Spirulina* and *Nannochloropsis* Salina under Subcritical and Supercritical Water Conditions. *Bioresource Technology* **2013**, 131, 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.144>.

Tian, C.; Liu, Z.; Zhang, Y.; Li, B.; Cao, W.; Lu, H.; Duan, N.; Zhang, L.; Zhang, T. Hydrothermal Liquefaction of Harvested High-Ash Low-Lipid Algal Biomass from Dianchi Lake: Effects of Operational Parameters and Relations of Products. *Bioresource Technology* **2015**, 184, 336–343. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.093>.

Teri, G.; Luo, L.; Savage, P. E. Hydrothermal Treatment of Protein, Polysaccharide, and Lipids Alone and in Mixtures. *Energy Fuels* **2014**, 28 (12), 7501–7509. <https://doi.org/10.1021/ef501760d>.

Song, W.; Wang, S.; Xu, D.; Guo, Y.; Yang, C.; Zhang, J.; Li, Y. Comprehensive Potential Evaluation of the Bio-Oil Production and Nutrient Recycling from Seven Algae through Hydrothermal Liquefaction. *Korean J. Chem. Eng.* **2019**, *36* (10), 1604–1618. <https://doi.org/10.1007/s11814-019-0345-4>.

Song, W.; Wang, S.; Xu, D.; Guo, Y.; Yang, C.; Zhang, J.; Li, Y. Comprehensive Potential Evaluation of the Bio-Oil Production and Nutrient Recycling from Seven Algae through Hydrothermal Liquefaction. *Korean J. Chem. Eng.* **2019**, *36* (10), 1604–1618. <https://doi.org/10.1007/s11814-019-0345-4>.

Song, W.; Wang, S.; Guo, Y.; Xu, D. Bio-Oil Production from Hydrothermal Liquefaction of Waste Cyanophyta Biomass: Influence of Process Variables and Their Interactions on the Product Distributions. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, *42* (31), 20361–20374. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.06.010>.

Singh, R.; Bhaskar, T.; Balagurumurthy, B. Effect of Solvent on the Hydrothermal Liquefaction of Macro Algae *Ulva Fasciata*. *Process Safety and Environmental Protection* **2015**, *93*, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.03.002>.

Singh, R.; Balagurumurthy, B.; Bhaskar, T. Hydrothermal Liquefaction of Macro Algae: Effect of Feedstock Composition. *Fuel* **2015**, *146*, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.01.018>.

Shuping, Z.; Yulong, W.; Mingde, Y.; Kaleem, I.; Chun, L.; Tong, J. Production and Characterization of Bio-Oil from Hydrothermal Liquefaction of Microalgae *Dunaliella Tertiolecta* Cake. *Energy* **2010**, *35* (12), 5406–5411. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.07.013>.

Sheng, L.; Wang, X.; Yang, X. Prediction Model of Biocrude Yield and Nitrogen Heterocyclic Compounds Analysis by Hydrothermal Liquefaction of Microalgae with Model Compounds. *Bioresource Technology* **2018**, *247*, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.011>.

Sevilla, M.; Fuertes, A. B. The Production of Carbon Materials by Hydrothermal Carbonization of Cellulose. *Carbon* **2009**, *47* (9), 2281–2289. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2009.04.026>.

Seehar, T. H.; Toor, S. S.; Shah, A. A.; Pedersen, T. H.; Rosendahl, L. A. Biocrude Production from Wheat Straw at Sub and Supercritical Hydrothermal Liquefaction. *Energies* **2020**, *13* (12), 3114. <https://doi.org/10.3390/en13123114>.

Sánchez-Bayo, A.; Megía Hervás, I.; Rodríguez, R.; Morales, V.; Bautista, L. F.; Vicente, G. Biocrude from *Nannochloropsis Gaditana* by Hydrothermal Liquefaction: An Experimental Design Approach. *Applied Sciences* **2021**, *11* (10), 4337. <https://doi.org/10.3390/app11104337>.

Remón, J.; Randall, J.; Budarin, V. L.; Clark, J. H. Production of Bio-Fuels and Chemicals by Microwave-Assisted, Catalytic, Hydrothermal Liquefaction (MAC-HTL) of a Mixture of Pine and Spruce Biomass. *Green Chem.* **2019**, *21* (2), 284–299. <https://doi.org/10.1039/C8GC03244K>.

Reddy, H. K.; Muppaneni, T.; Ponnusamy, S.; Sudasinghe, N.; Pegallapati, A.; Selvaratnam, T.; Seger, M.; Dungan, B.; Nirmalakhandan, N.; Schaub, T.; Holguin, F. O.; Lammers, P.; Voorhies, W.; Deng, S. Temperature Effect on Hydrothermal Liquefaction of *Nannochloropsis Gaditana* and *Chlorella* Sp. *Applied Energy* **2016**, *165*, 943–951. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.11.067>.

Qu, Y.; Wei, X.; Zhong, C. Experimental Study on the Direct Liquefaction of *Cunninghamia Lanceolata* in Water. *Energy* **2003**, *28* (7), 597–606. [https://doi.org/10.1016/S0360-5442\(02\)00178-0](https://doi.org/10.1016/S0360-5442(02)00178-0).

Parsa, M.; Jalilzadeh, H.; Pazoki, M.; Ghasemzadeh, R.; Abduli, M. Hydrothermal Liquefaction of *Gracilaria Gracilis* and *Cladophora Glomerata* Macro-Algae for Biocrude Production. *Bioresource Technology* **2018**, *250*, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.059>.

Obeid, R.; Smith, N.; Lewis, D. M.; Hall, T.; van Eyk, P. A Kinetic Model for the Hydrothermal Liquefaction of Microalgae, Sewage Sludge and Pine Wood with Product Characterisation of Renewable Crude. *Chemical Engineering Journal* **2022**, *428*, 131228. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131228>.

Obeid, R.; Smith, N.; Lewis, D. M.; Hall, T.; van Eyk, P. A Kinetic Model for the Hydrothermal Liquefaction of Microalgae, Sewage Sludge and Pine Wood with Product Characterisation of Renewable Crude. *Chemical Engineering Journal* **2022**, *428*, 131228. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131228>.

Obeid, R.; Lewis, D. M.; Smith, N.; Hall, T.; van Eyk, P. Reaction Kinetics and Characterisation of Species in Renewable Crude from Hydrothermal Liquefaction of Monomers to Represent Organic Fractions of Biomass Feedstocks. *Chemical Engineering Journal* **2020**, *389*, 124397. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124397>.

Obeid, R.; Lewis, D. M.; Smith, N.; Hall, T.; van Eyk, P. Reaction Kinetics and Characterization of Species in Renewable Crude from Hydrothermal Liquefaction of Mixtures of Polymer Compounds To Represent Organic Fractions of Biomass Feedstocks. *Energy Fuels* **2020**, *34* (1), 419–429. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b02936>.

Neveux, N.; Yuen, A. K. L.; Jazrawi, C.; He, Y.; Magnusson, M.; Haynes, B. S.; Masters, A. F.; Montoya, A.; Paul, N. A.; Maschmeyer, T.; de Nys, R. Pre- and Post-Harvest Treatment of Macroalgae to Improve the Quality of Feedstock for Hydrothermal Liquefaction. *Algal Research* **2014**, *6*, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.08.008>.

Neveux, N.; Yuen, A. K. L.; Jazrawi, C.; Magnusson, M.; Haynes, B. S.; Masters, A. F.; Montoya, A.; Paul, N. A.; Maschmeyer, T.; de Nys, R. Biocrude Yield and Productivity from the Hydrothermal Liquefaction of Marine and Freshwater Green Macroalgae. *Bioresour. Technol.* **2014**, *155*, 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.083>.

Motavaf, B.; Savage, P. E. Effect of Process Variables on Food Waste Valorization via Hydrothermal Liquefaction. *ACS EST Eng.* **2021**, *1* (3), 363–374. <https://doi.org/10.1021/acsestengg.0c00115>.

Minowa, T.; Yokoyama, S.; Kishimoto, M.; Okakura, T. Oil Production from Algal Cells of *Dunaliella Tertiolecta* by Direct Thermochemical Liquefaction. *Fuel* **1995**, *74* (12), 1735–1738. [https://doi.org/10.1016/0016-2361\(95\)80001-X](https://doi.org/10.1016/0016-2361(95)80001-X).

Minowa, T.; Kondo, T.; Sudirjo, S. T. Thermochemical Liquefaction of Indonesian Biomass Residues. *Biomass and Bioenergy* **1998**, *14* (5), 517–524. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(98\)00006-3](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(98)00006-3).

Minowa, T.; Inoue, S.; Hanaoka, T.; Matsumura, Y. Hydrothermal Reaction of Glucose and Glycine as Model Compounds of Biomass. *J. Jpn. Inst. Energy* **2004**, *83* (10), 794–798. <https://doi.org/10.3775/jie.83.794>.

Minowa et al. - 2004 - Hydrothermal Reaction of Glucose and Glycine as Mo.Pdf. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jie1992/83/10/83_10_794/pdf (accessed 2022-11-24).

Luo, L.; Sheehan, J. D.; Dai, L.; Savage, P. E. Products and Kinetics for Isothermal Hydrothermal Liquefaction of Soy Protein Concentrate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2016**, *4* (5), 2725–2733. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00226>.

López Barreiro, D.; Zamalloa, C.; Boon, N.; Vyverman, W.; Ronsse, F.; Brilman, W.; Prins, W. Influence of Strain-Specific Parameters on Hydrothermal Liquefaction of Microalgae. *Bioresour. Technol.* **2013**, *146*, 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.123>.

López Barreiro, D.; Riede, S.; Hornung, U.; Kruse, A.; Prins, W. Hydrothermal Liquefaction of Microalgae: Effect on the Product Yields of the Addition of an Organic Solvent to Separate the Aqueous Phase and the Biocrude Oil. *Algal Research* **2015**, *12*, 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.025>.

Liang, S.; Wei, L.; Passero, M.; Feris, K.; McDonald, A. Hydrothermal Liquefaction of Laboratory Cultivated and Commercial Algal Biomass into Crude Bio-Oil. *Environmental Progress & Sustainable Energy* **2017**, *36*. <https://doi.org/10.1002/ep.12629>.

Li, H.; Liu, Z.; Zhang, Y.; Li, B.; Lu, H.; Duan, N.; Liu, M.; Zhu, Z.; Si, B. Conversion Efficiency and Oil Quality of Low-Lipid High-Protein and High-Lipid Low-Protein Microalgae via Hydrothermal Liquefaction. *Bioresour. Technol.* **2014**, *154*, 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.074>.

Leucci, L. Liquefazione idrotermale di biomasse per la produzione di bio-olio = Hydrothermal liquefaction of biomass for bio-oil production. laurea, Politecnico di Torino, 2022. <https://webthesis.biblio.polito.it/21945/> (accessed 2022-12-05).

Leow, S.; Witter, J. R.; Vardon, D. R.; Sharma, B. K.; Guest, J. S.; Strathmann, T. J. Prediction of Microalgae Hydrothermal Liquefaction Products from Feedstock Biochemical Composition. *Green Chem.* **2015**, *17* (6), 3584–3599. <https://doi.org/10.1039/C5GC00574D>.

Keiller, B. G.; Potter, M.; Burton, R. A.; van Eyk, P. J. Elucidating the Degradation Reaction Pathways for the Hydrothermal Carbonisation of Hemp via Biochemical Compositional Analysis. *Fuel* **2021**, *294*, 120450. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120450>.

Jindal, M. K.; Jha, M. K. Effect of Process Parameters on Hydrothermal Liquefaction of Waste Furniture Sawdust for Bio-Oil Production. *RSC Adv.* **2016**, *6* (48), 41772–41780. <https://doi.org/10.1039/C6RA02868C>.

Jin, M.; Oh, Y.-K.; Chang, Y. K.; Choi, M. Optimum Utilization of Biochemical Components in *Chlorella* Sp. KR1 via Subcritical Hydrothermal Liquefaction. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2017**, *5* (8), 7240–7248. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b01473>.

Jin, B.; Duan, P.; Xu, Y.; Wang, F.; Fan, Y. Co-Liquefaction of Micro- and Macroalgae in Subcritical Water. *Bioresource Technology* **2013**, *149*, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.045>.

Jena, U.; Das, K. C.; Kastner, J. R. Effect of Operating Conditions of Thermochemical Liquefaction on Biocrude Production from *Spirulina Platensis*. *Bioresource Technology* **2011**, *102* (10), 6221–6229. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.057>.

Huang, Y.; Chen, Y.; Xie, J.; Liu, H.; Yin, X.; Wu, C. Bio-Oil Production from Hydrothermal Liquefaction of High-Protein High-Ash Microalgae Including Wild Cyanobacteria Sp. and Cultivated Bacillariophyta Sp. *Fuel* **2016**, *183*, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.06.013>.

Huang, Y.; Chen, Y.; Xie, J.; Liu, H.; Yin, X.; Wu, C. Bio-Oil Production from Hydrothermal Liquefaction of High-Protein High-Ash Microalgae Including Wild Cyanobacteria Sp. and Cultivated Bacillariophyta Sp. *Fuel* **2016**, *183*, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.06.013>.

Hietala, D. C.; Savage, P. E. A Molecular, Elemental, and Multiphase Kinetic Model for the Hydrothermal Liquefaction of Microalgae. *Chemical Engineering Journal* **2021**, *407*, 127007. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127007>.

He, S.; Zhao, M.; Wang, J.; Cheng, Z.; Yan, B.; Chen, G. Hydrothermal Liquefaction of Low-Lipid Algae *Nannochloropsis* Sp. and *Sargassum* Sp.: Effect of Feedstock Composition and Temperature. *Science of The Total Environment* **2020**, *712*, 135677. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135677>.

Harisankar, S.; Vishnu Mohan, R.; Choudhary, V.; Vinu, R. Effect of Water Quality on the Yield and Quality of the Products from Hydrothermal Liquefaction and Carbonization of Rice Straw. *Bioresource Technology* **2022**, *351*, 127031. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127031>.

Han, Y.; Hoekman, S. K.; Cui, Z.; Jena, U.; Das, P. Hydrothermal Liquefaction of Marine Microalgae Biomass Using Co-Solvents. *Algal Research* **2019**, *38*, 101421. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101421>.

Guo, Y.; Song, W.; Lu, J.; Ma, Q.; Xu, D.; Wang, S. Hydrothermal Liquefaction of Cyanophyta: Evaluation of Potential Bio-Crude Oil Production and Component Analysis. *Algal Research* **2015**, *11*, 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.06.025>.

Gollakota, A.; Savage, P. E. Effect of Additives on Hydrothermal Liquefaction of Polysaccharides. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2020**, *59* (41), 18480–18488. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c03537>.

Gollakota, A.; Savage, P. E. Biocrude Production from Fast and Isothermal Hydrothermal Liquefaction of Chitin. *Energy Fuels* **2019**, *33* (11), 11328–11338. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b03209>.

- Gollakota, A.; Savage, P. E. Hydrothermal Liquefaction of Model Food Waste Biomolecules and Ternary Mixtures under Isothermal and Fast Conditions. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2018**, 6 (7), 9018–9027. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b01368>.
- Gai, C.; Zhang, Y.; Chen, W.-T.; Zhang, P.; Dong, Y. An Investigation of Reaction Pathways of Hydrothermal Liquefaction Using *Chlorella Pyrenoidosa* and *Spirulina Platensis*. *Energy Conversion and Management* **2015**, 96, 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.02.056>.
- Gai, C.; Zhang, Y.; Chen, W.-T.; Zhang, P.; Dong, Y. Energy and Nutrient Recovery Efficiencies in Biocrude Oil Produced via Hydrothermal Liquefaction of *Chlorella Pyrenoidosa*. *RSC Adv.* **2014**, 4 (33), 16958–16967. <https://doi.org/10.1039/C3RA46607H>.
- Fan, Y.; Hornung, U.; Raffelt, K.; Dahmen, N. The Influence of Lipids on the Fate of Nitrogen during Hydrothermal Liquefaction of Protein-Containing Biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2020**, 147, 104798. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104798>.
- Evcil, T.; Tekin, K.; Ucar, S.; Karagoz, S. Hydrothermal Liquefaction of Olive Oil Residues. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* **2021**, 22, 100476. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100476>.
- Eboibi, B. E.; Lewis, D. M.; Ashman, P. J.; Chinnasamy, S. Effect of Operating Conditions on Yield and Quality of Biocrude during Hydrothermal Liquefaction of Halophytic Microalga *Tetraselmis Sp.* *Bioresource Technology* **2014**, 170, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.083>.
- Duan, P.; Jin, B.; Xu, Y.; Yang, Y.; Bai, X.; Wang, F.; Zhang, L.; Miao, J. Thermo-Chemical Conversion of *Chlorella Pyrenoidosa* to Liquid Biofuels. *Bioresource Technology* **2013**, 133, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.069>.
- Duan, P.; Chang, Z.; Xu, Y.; Bai, X.; Wang, F.; Zhang, L. Hydrothermal Processing of Duckweed: Effect of Reaction Conditions on Product Distribution and Composition. *Bioresource Technology* **2013**, 135, 710–719. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.106>.
- Dong, S.; Huang, X.; Yang, X. Optimizing on Flash Hydrothermal Liquefaction Environment for Improving the Quality of Bio-Crude. *Fuel* **2022**, 324, 124641. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124641>.
- Ding, X.; Mahadevan Subramanya, S.; Waltz, K. E.; Wang, Y.; Savage, P. E. Hydrothermal Liquefaction of Polysaccharide Feedstocks with Heterogeneous Catalysts. *Bioresource Technology* **2022**, 352, 127100. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127100>.
- Dandamudi, K. P. R.; Muppaneni, T.; Sudasinghe, N.; Schaub, T.; Holguin, F. O.; Lammers, P. J.; Deng, S. Co-Liquefaction of Mixed Culture Microalgal Strains under Sub-Critical Water Conditions. *Bioresource Technology* **2017**, 236, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.165>.
- Dandamudi, K. P. R.; Muppaneni, T.; Markovski, J. S.; Lammers, P.; Deng, S. Hydrothermal Liquefaction of Green Microalga *Kirchneriella Sp.* under Sub- and Super-Critical Water Conditions. *Biomass and Bioenergy* **2019**, 120, 224–228. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.021>.
- Couto, E. A.; Pinto, F.; Varela, F.; Reis, A.; Costa, P.; Calijuri, M. L. Hydrothermal Liquefaction of Biomass Produced from Domestic Sewage Treatment in High-Rate Ponds. *Renewable Energy* **2018**, 118, 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.041>.
- Christensen, P. S.; Peng, G.; Vogel, F.; Iversen, B. B. Hydrothermal Liquefaction of the Microalgae *Phaeodactylum Tricornutum*: Impact of Reaction Conditions on Product and Elemental Distribution. *Energy Fuels* **2014**, 28 (9), 5792–5803. <https://doi.org/10.1021/ef5012808>.
- Cheng, F.; Mallick, K.; Henkanatte Gedara, S. M.; Jarvis, J. M.; Schaub, T.; Jena, U.; Nirmalakhandan, N.; Brewer, C. E. Hydrothermal Liquefaction of *Galdieria Sulphuraria* Grown on Municipal Wastewater. *Bioresource Technology* **2019**, 292, 121884. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121884>.
- Chen, W.-T.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Schideman, L.; Yu, G.; Zhang, P.; Minarick, M. Co-Liquefaction of Swine Manure and Mixed-Culture Algal Biomass from a Wastewater Treatment System to Produce Bio-Crude Oil. *Applied Energy* **2014**, 128, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.04.068>.

Chen, W.-T.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Yu, G.; Schideman, L. C.; Zhang, P.; Minarick, M. Hydrothermal Liquefaction of Mixed-Culture Algal Biomass from Wastewater Treatment System into Bio-Crude Oil. *Bioresource Technology* **2014**, *152*, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.111>.

Chan, Y. H.; Yusup, S.; Quitain, A. T.; Uemura, Y.; Sasaki, M. Bio-Oil Production from Oil Palm Biomass via Subcritical and Supercritical Hydrothermal Liquefaction. *The Journal of Supercritical Fluids* **2014**, *95*, 407–412. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.014>.

Chacón-Parra, A.; van Eyk, P. Reaction Kinetics for the Hydrothermal Carbonisation of Cellulose in a Two-Phase Pathway. *Fuel* **2022**, *309*, 122169. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122169>.

Cao, L.; Luo, G.; Zhang, S.; Chen, J. Bio-Oil Production from Eight Selected Green Landscaping Wastes through Hydrothermal Liquefaction. *RSC Adv.* **2016**, *6* (18), 15260–15270. <https://doi.org/10.1039/C5RA24760H>.

Brown, T. M.; Duan, P.; Savage, P. E. Hydrothermal Liquefaction and Gasification of *Nannochloropsis* Sp. *Energy Fuels* **2010**, *24* (6), 3639–3646. <https://doi.org/10.1021/ef100203u>.

Biller, P.; Ross, A. B.; Skill, S. C.; Lea-Langton, A.; Balasundaram, B.; Hall, C.; Riley, R.; Llewellyn, C. A. Nutrient Recycling of Aqueous Phase for Microalgae Cultivation from the Hydrothermal Liquefaction Process. *Algal Research* **2012**, *1* (1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.02.002>.

Biller, P.; Ross, A. B.; Skill, S. C.; Lea-Langton, A.; Balasundaram, B.; Hall, C.; Riley, R.; Llewellyn, C. A. Nutrient Recycling of Aqueous Phase for Microalgae Cultivation from the Hydrothermal Liquefaction Process. *Algal Research* **2012**, *1* (1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.02.002>.

Biller, P.; Ross, A. B. Potential Yields and Properties of Oil from the Hydrothermal Liquefaction of Microalgae with Different Biochemical Content. *Bioresource Technology* **2011**, *102* (1), 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.028>.

Bayat, H.; Dehghanizadeh, M.; Jarvis, J. M.; Brewer, C. E.; Jena, U. Hydrothermal Liquefaction of Food Waste: Effect of Process Parameters on Product Yields and Chemistry. *Frontiers in Sustainable Food Systems* **2021**, *5*.

Atallah, E.; Zeaiter, J.; Ahmad, M. N.; Leahy, J. J.; Kwapinski, W. Hydrothermal Carbonization of Spent Mushroom Compost Waste Compared against Torrefaction and Pyrolysis. *Fuel Processing Technology* **2021**, *216*, 106795. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2021.106795>.

Alba, L.; Torri, C.; Samorì, C.; Spek, J.; Fabbri, D.; Kersten, S.; Brilman, W. Hydrothermal Treatment (HTT) of Microalgae: Evaluation of the Process As Conversion Method in an Algae Biorefinery Concept. *Energy & Fuels* **2011**, *26*. <https://doi.org/10.1021/ef201415s>.

Aierzhati, A.; Stablein, M. J.; Wu, N. E.; Kuo, C.-T.; Si, B.; Kang, X.; Zhang, Y. Experimental and Model Enhancement of Food Waste Hydrothermal Liquefaction with Combined Effects of Biochemical Composition and Reaction Conditions. *Bioresource Technology* **2019**, *284*, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.076>.

Annexe 4 : FT-ICR des composés basiques de la bio-huile (ESI (+))

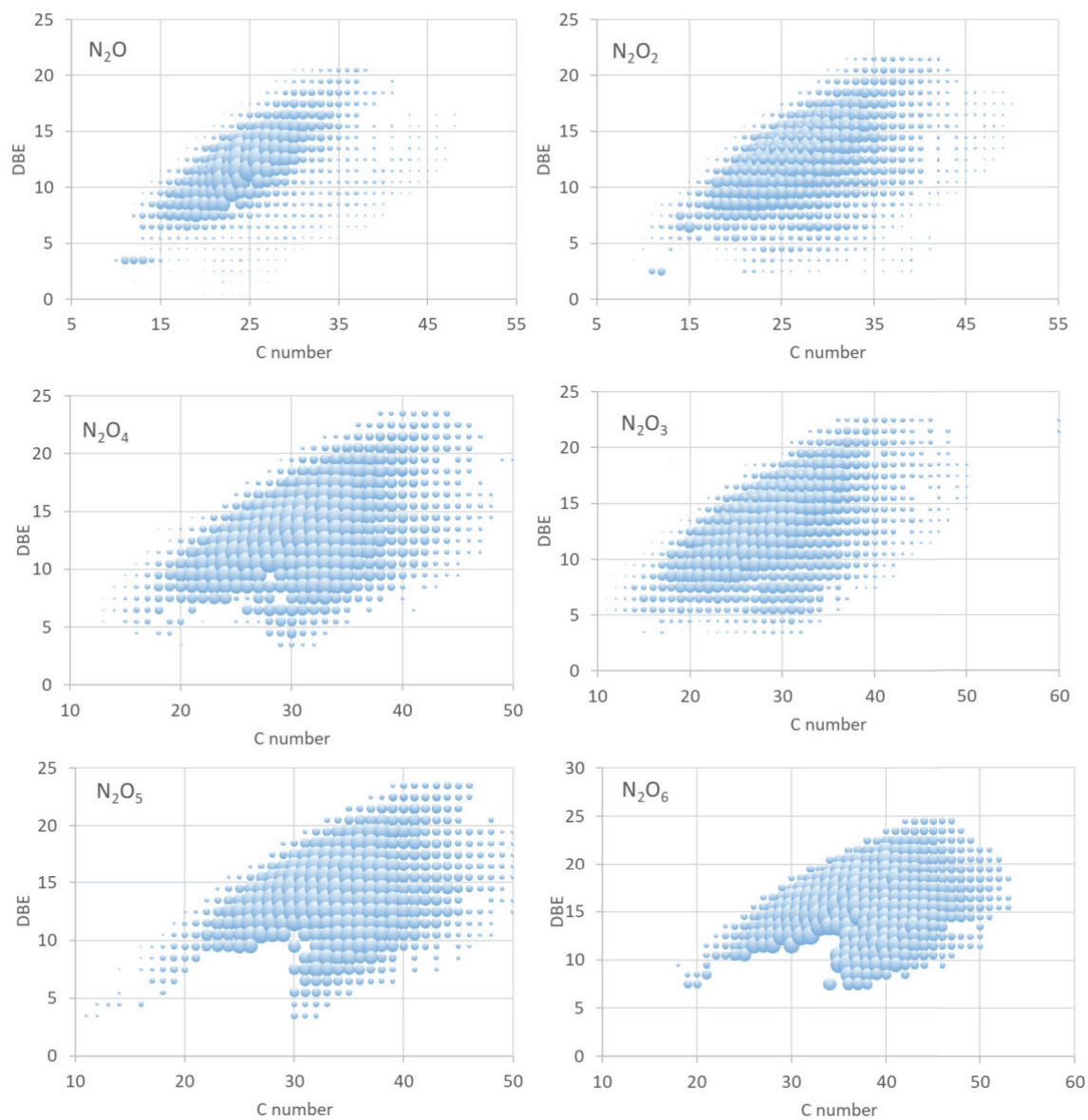


Figure VI-8 : Evolution du DBE en fonction du nombre de carbones pour les familles de composés N_2O_x ($x : 1$ à 4) de la bio-huile issue d'HTL de 2020RAFCS2 en continu à $300^\circ C$ pendant 15 min et à 10 % de MS (mode ESI (+))

Annexe 5-A : Correspondance des familles moléculaires

Tableau VI-11 : Correspondance des familles moléculaires

Famille moléculaire du schéma réactionnel du modèle cinétique	Acronymes	Correspondance avec le schéma réactionnel des <i>C. sorokiniana</i> et <i>C. vulgaris</i> proposé en chapitre 4
Cendres	Cs	-
Cendres dissoutes	CsD	-
Carbohydrates	Carb	Carbohydrates
Sucres	Suc	Glucose
Protéines	Pro	Protéines
Lipides	Lip	Lipides
Composés lourds 1	CL1	-
Composés lourds 2	CL2	-
Produits de décomposition	PdD	Diamines Alcanes ⁽²⁾ Alcènes ⁽³⁾ Alcools ⁽³⁾ Butyrolactone 2-pyrrolidone
Acides gras	AG	Acides gras
Glycérol	Gly	Glycérol Aldéhydes et alcools
CO ₂	CO ₂	CO ₂
Amides	Amd	Amides Pyrrolidines et quinolones
Acides aminés	AA	A.A. aliphatique ou aromatiques A.A. basiques A.A. acides A.A. hydroxylés A.A. soufrés
Composés cycliques oxygénés et aromatiques	CCOA	Furfural Composés cycliques oxygénés Humines Cyclopentenone/cylopentanone Indènes Naphthalènes
Produits de Maillard	PdM	Pyrazines Indoles/indolizines
Aldéhydes/acides	Ald	Acide ⁽⁷⁾
Acides carboxyliques	AC	Alcènes ⁽²⁾
Amines	Amn	Amines ⁽¹⁾
DKP	DKP	DKP
Pyrrolidones	PyrlD	Pyrrolidones
Pyrroles	Pyr	Pyrroles
Esters	Est	Esters
NH ₃	NH ₃	NH ₃
Alcanes/alcènes/alcools	Alc	Alcanes ⁽¹⁾ Alcènes ⁽²⁾ Alcools ⁽²⁾
Mélanoïdines	Mel	Mélanoïdines

Annexe 5-B : Calcul des facteurs massiques

Les masses moléculaires présentées dans cette annexe ont servi à calculer le facteur de masse stœchiométrique associé aux réactions du modèle cinétique. La masse molaire des **acides gras** (AG) et **acides aminés** (AA) a été calculé en faisant la moyenne sur les profils des lots de *C. sorokiniana* et *C. vulgaris*, autrement dit, en multipliant l'abondance de chaque acide gras et acide aminé par la masse molaire correspondante. La masse molaire des **amines** (Amn), **acides carboxyliques** (AC) et **esters** (Est) a été déterminée en faisant la moyenne des masses molaires des composés théoriquement présents dans les catégories Amines⁽¹⁾, Alcènes⁽²⁾ et Esters, respectivement (voir annexe 2-F). La masse molaire du glucose a été considérée pour la famille moléculaire **sucres** (Suc) car c'est l'unité de sucres la plus abondante (voir Chapitre I2.3).

Tableau VI-12 : Masses molaires considérées pour le calcul des facteurs massiques

Dénomination (x)	Masse molaire (M _x) g/mol
Suc	180,2
AA	139,4
H ₂ O	18
NH ₃	17
AG	270,2
Gly	92,1
Amn	80
CO ₂	44
AC	113,9
Est	288,5

Tableau VI-13 : Calcul des facteurs de masse f

Facteur f	Valeur
f ₁	0,90
f ₂	0,87
f ₃	0,95
f ₄	0,75
f ₅	0,88
f ₆	0,79
f ₇	0,44
f ₈	0,94
f ₉	0,90
f ₁₀	0,34
f ₁₁	0,50
f ₁₂	0,59
f ₁₃	0,84
f ₁₄	0,68
f ₁₅	0,61
f ₁₆	0,06

Annexe 5-C : Profils des familles de molécules pour *C. vulgaris*

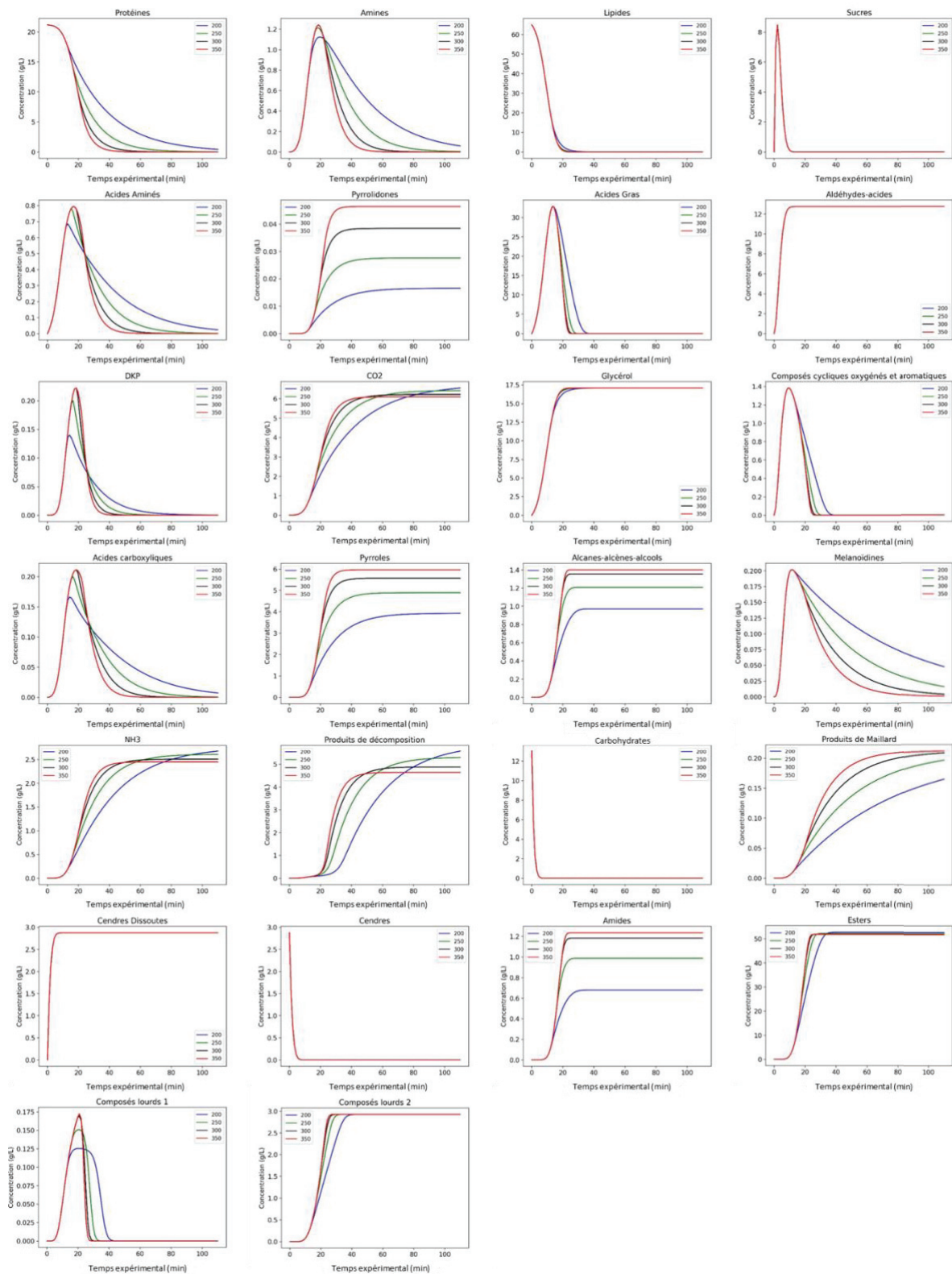


Figure VI-9 : Profil des familles de molécules obtenus suite à la modélisation cinétique appliquée aux données de *C. vulgaris*

Annexe 5-D : Données expérimentales

Tableau VI-14 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (MS) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais du plan d'expérience n°2

Lot	REF	T (°C)	%MO	Temps de séjour (min)	Y _{bio-huile} (%)	Y _{char} (%)	Y _{gaz} (%)	Y _{phaq} (%)	BM (%)	BC (%)
2020RAFCS4	RAFCS1	25		0	0	0	0	100	100	-
	RAFCS2	200		0	0	51,79	0	51,43	92	-
	RAFCS3-2			30	7,93	35,82	0,04	56,21	98,2	-
	RAFCS4	250		0	12,54	38	3,58	45,88	98	115,3
	RAFCS5-2			30	23,5	14,38	0,09	62,03	98,1	96,6
	RAFCS6			0	32,27	15,13	5,09	47,51	98,2	117,3
	RAFCS7			5	33,65	11,4	6,96	47,99	98,6	102,8
	RAFCS8	300	10	10	31,96	11,63	6,77	49,64	97,5	91,6
	RAFCS9			20	21,63	21,17	7,44	49,76	98,1	100,7
	RAFCS10			30	28,6	12,66	7,58	51,16	97,3	90,1
	RAFCS11			0	32,2	7,43	7,42	52,95	97,5	88,7
	RAFCS12			5	30,92	7,53	7,73	53,82	97,1	87,3
	RAFCS13	350		10	37,14	7,76	7,36	47,74	97,7	86,5
	RAFCS14			20	37,9	7,72	7,8	46,58	98,3	93,6
	RAFCS15			30	38,18	8,63	8,27	44,92	97,4	97,7
2021RAFCV2	RAFCV1	25		0	0	0	0	100	100	-
	RAFCV2	200		0	32,89	60,36	0,45	6,3	98,8	-
	RAFCV3			30	53,26	17,98	0,93	27,83	98,4	112
	RAFCV4	250		0	55,3	16,6	0,12	27,98	99,2	-
	RAFCV5			30	59,05	7,25	3,19	30,51	98,7	-
	RAFCV6			0	65,58	5,9	2,62	25,9	98,3	-
	RAFCV7			5	61,38	5,72	3,18	29,72	97,7	87,1
	RAFCV8	300	10	10	68,31	4,26	3,18	24,25	98	99,9
	RAFCV9			20	62,93	5,28	3,33	28,46	97,8	102,2
	RAFCV10			30	62,31	3,9	3,44	30,35	98,4	-
	RAFCV11			0	56,12	2,92	3,42	37,54	97,3	85
	RAFCV12			5	64,05	2,73	4,29	28,93	98,5	104,6
	RAFCV13	350		10	60,82	3,03	NA	NA	-	-
	RAFCV14			20	43,01	15,31	4,12	37,56	98	80,8
	RAFCV15			30	54,36	3	4,28	38,36	98,1	86,8

Tableau VI-15 : Rendements en bio-huile, char, phase aqueuse et gaz (/MS) et bilan massique (BM) et carbone (BC) des essais complémentaires

Lot	REF	T (°C)	%MO	Temps de séjour (min)	Y _{bio-huile} (%)	Y _{char} (%)	Y _{gaz} (%)	Y _{phaq} (%)	BM (%)	BC (%)
2021RAFCV1	RAF 50	300	10	15	48,21	5,77	5,68	40,34	98,2	82,2
2020RAFCS3	RAF 54	300	10	15	30,29	9,91	6,79	53,01	98	92,4
2020RAFCS4	RAF 48	350	17	5	32,9	11,21	6,77	49,12	95,4	80,4
2020RAFCS4	RAF 49	350	17	5	19,49	20,17	6,53	53,81	95,5	77,5

Les enjeux actuels dans le secteur énergétique sont nombreux et impliquent le développement de procédés peu énergivores et utilisant des ressources renouvelables. Cette thèse s'inscrit dans cette problématique en étudiant plus particulièrement le procédé de liquéfaction hydrothermale (HTL) appliqué aux micro-algues. Ce procédé thermochimique traite la biomasse humide sous pression, à 300 °C pendant 5 à 60 min. Une bio-huile à fort potentiel énergétique et utilisable, après raffinage, en tant que biocarburant est alors obtenue. Un des principaux objectifs de cette thèse est de comprendre le lien entre la composition de la biomasse algale et les produits obtenus en sortie d'HTL. En effet, la forte teneur en protéines et pigments dans les micro-algues implique la présence de composés azotés dans la bio-huile, difficiles à traiter lors de l'étape de raffinage et diminuant la qualité de la bio-huile. Ce travail s'intéresse tout d'abord à l'influence de la composition biochimique de la biomasse et des conditions opératoires de l'HTL sur le rendement en bio-huile et sur le taux d'azote. A partir des données acquises, un modèle prédictif du rendement en bio-huile est développé. Puis, une étude réactionnelle, se basant sur l'analyse détaillée des bio-huiles et de la phase aqueuse issus de la liquéfaction hydrothermale est menée. Cette étude permet d'aboutir à un schéma réactionnel de dégradation de *C. sorokiniana* et de *C. vulgaris* en conditions d'HTL et à une modélisation cinétique. Finalement, le suivi de molécules azotées permet de mettre en évidence les limites de cette modélisation et d'émettre des hypothèses quant aux conditions de formation de ces molécules.

There are many challenges concerning the energetic sector and that implies the development of energy-efficient processes and the use of renewable biomasses. This thesis falls within this problematic by studying more specifically the hydrothermal liquefaction process (HTL) of microalgae. This thermochemical process converts wet biomasses under pressure, at 300 °C and during 5 to 60 min to produce a high energy content bio-oil, usable, after refining, as biofuel. One of the main objective of this thesis is to understand the link between the algal biomass composition and the HTL products. Indeed, the high protein and pigments content in microalgae implies nitrogen compounds in bio-oil, which are difficult to remove and which decrease bio-oil quality. This work focus first on the influence of the biomass biochemical composition and of the HTL operational conditions on bio-oil yield and quality. A predictive model is developed with data acquired. Then, a reaction study based on detailed analyses of bio-oil and aqueous phase from HTL is done to conclude on a degradation reaction scheme of *C. sorokiniana* and *C. vulgaris* in HTL conditions and on a kinetic modelling. Finally, nitrogen and oxygen molecule profiles are done to put forward limitation of kinetic modelling and to hypothesize on HTL conditions to avoid them.